



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Diversidad de los géneros *Ganoderma* y *Amauroderma* en el Ecuador**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en

Ciencias Biológicas

**WASHINGTON ANDRÉS SALAZAR LOAIZA**

Quito, 2014

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas del candidato Washington Andrés Salazar Loaiza ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

María Eugenia Ordoñez, Ph.D

Directora de la Disertación

Quito, 31 de octubre de 2014

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios, al gran abuelo Padre Sol por la vida, a mi abuelita, Madre Naturaleza Pachamamita por el Aire, por el Agua, por el Fuego y por la Tierra; por entregarme tan valioso regalo como son los honguitos para poder estudiarlos. A los elementales sagrados de los Hongos por todo el aprendizaje y el amor entregados.

Agradezco inmensamente a mi familia. A mi madre y a mi padre por todo el amor y esfuerzo entregado a lo largo de toda mi vida, a mi querida hermana por el cariño y apoyo incondicional. A mis queridos amigos Luchito y Mechita por toda la luz, amor y fuerza brindados.

A María Eugenia Ordoñez porque además de ser una excelente directora fue una gran guía y amiga. Agradezco a Charles Barnes por todo el conocimiento y apoyo brindado para los análisis filogenéticos del presente estudio.

Al Doctor Carlos A. Soria, por todo el apoyo, guía y afecto brindado a lo largo de esta etapa universitaria. A Cristina Toapanta, Alessio Barili y Nelsón Dueñas por la ayuda con los registros fotográficos. Y a todos mis amigos y compañeros que de una u otra forma estuvieron presentes para lograr culminar este proceso.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>CERTIFICACIÓN .....</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>IV</b>
<b>TABLA DE CONTENIDOS .....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE ANEXOS .....</b>	<b>IX</b>
<b>1. RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>3.1 GÉNERO <i>Ganoderma</i>.....</b>	<b>4</b>
<b>3.2 GÉNERO <i>Amaurodema</i>.....</b>	<b>9</b>
<b>3.3 CARACTERES TAXONÓMICOS UTILIZADOS PARA IDENTIFICAR     ESPECIES DE <i>Ganoderma</i> .....</b>	<b>10</b>
3.3.1 CARACTERES MORFOLÓGICOS DE LOS BASIDIOCARPOS .....	10
3.3.2 PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD SEXUAL .....	12
3.3.3 CARACTERES DE AISLADOS EN MEDIOS DE CULTIVO.....	12
3.3.4 ANÁLISIS DE SECUENCIA DE ADN.....	13
<b>3.4 OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
3.4.1 OBJETIVO GENERAL: .....	16
3.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	16

<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
<b>4.1 LOCALIDADES DE MUESTREO.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2 MANEJO EN EL CAMPO .....</b>	<b>18</b>
4.2.1 RECOLECCIÓN MUESTRAS .....	18
4.2.2 OBTENCIÓN DEL CULTIVO PURO .....	18
<b>4.3 MANEJO EN LABORATORIO .....</b>	<b>19</b>
4.3.1 PRESERVACIÓN DE CEPAS .....	19
4.3.2 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN .....	20
4.3.3 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR .....	21
4.3.4 ANÁLISIS DE SECUENCIAS DE LA REGIÓN ITS .....	22
4.3.5 IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA .....	23
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>25</b>
<b>5.1 MUESTREO.....</b>	<b>25</b>
<b>5.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS .....</b>	<b>27</b>
<b>5.3 IDENTIFICACIÓN .....</b>	<b>28</b>
<b>5.4 ANÁLISIS FILOGENÉTICO .....</b>	<b>29</b>
<b>6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES .....</b>	<b>32</b>
<b>7. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>41</b>
<b>8. FIGURAS .....</b>	<b>50</b>
<b>9. TABLAS .....</b>	<b>60</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>89</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Mapa de distribución de las localidades y regiones naturales donde se recolectaron muestras de hongos de la familia Ganodermataceae en el Ecuador .....	50
<b>Figura 2.</b>	Crecimiento miceliar de cultivos puros de <i>Ganoderma</i> .....	51
<b>Figura 3.</b>	Cultivos puros de <i>Ganoderma</i> o <i>Amauroderma</i> en granos de cebada.....	51
<b>Figura 4.</b>	Ejemplo de características morfológicas de especies de <i>Ganoderma</i> encontradas .....	52
<b>Figura 5.</b>	Ejemplo de características morfológicas de especies de <i>Amauroderma</i> encontradas .....	53
<b>Figura 6.</b>	Sustrato de crecimiento de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> .....	54
<b>Figura 7.</b>	Muestras de <i>Ganoderma</i> que fueron identificadas hasta género colectadas en el presente estudio. ....	55
<b>Figura 8.</b>	Muestras de <i>Amauroderma</i> que fueron identificadas hasta género colectadas en el presente estudio. ....	56
<b>Figura 9.</b>	Basidiocarpo de <i>Ganoderma applanatum</i> en esporulación colectado en la Estación Científica Yasuní.....	57
<b>Figura 10.</b>	Árbol del análisis de máxima verosimilitud de las secuencias de la región ITS1- 5.8S- ITS2 del ADNr de muestras de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> . ....	58
<b>Figura 11.</b>	Plasticidad morfológica de las muestras de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> encontradas en el presente estudio.. ....	59

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Cebadores utilizados para la amplificación de la región ITS del ADNr para la identificación de especies de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> .....	60
<b>Tabla 2.</b>	Muestras de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio.....	60
<b>Tabla 3.</b>	Características morfológicas de las especies de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> obtenidas en el presente estudio.....	76
<b>Tabla 4.</b>	Muestras de <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> identificadas en base a secuencias del ITS y Morfología. ....	86



## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b>	Distribución de <i>Ganoderma</i> a nivel mundial basada en Moncalvo (2000); Moncalvo y Buchanan (2008); (Hong y Jung, 2004); y este estudio. ....	89
<b>Anexo 2:</b>	Ciclo de vida de <i>Ganoderma spp.</i> .....	90
<b>Anexo 3:</b>	Preparación de Medios de Cultivo para <i>Ganoderma</i> y <i>Amauroderma</i> .....	91
<b>Anexo 4:</b>	Protocolo de extracción de ADN con Tiocinato de Guanidina.....	92
<b>Anexo 5:</b>	Especie, código e identificación de secuencias publicadas en GenBank que fueron incluidas en el análisis filogenético. ....	94

## 1. RESUMEN

Los hongos de los géneros *Ganoderma* y *Amauroderma* son mundialmente conocidos por su propiedades medicinales además de ser importantes patógenos de plantas. El objetivo del presente estudio fue realizar un estudio preliminar de la diversidad de hongos del género *Ganoderma* y *Amauroderma* en el Ecuador. Se visitaron 14 localidades al lado oriental y occidental de la Cordillera de los Andes en el Ecuador. Se obtuvieron 156 colecciones que corresponden a 19 especies de *Ganoderma* y 5 de *Amauroderma*. Hubo 6 colecciones que fueron identificadas únicamente hasta el nivel de familia. La identificación taxonómica se basó en análisis morfológicos y en la secuencia de la región ITS del ADNr para 54 muestras y únicamente en características morfológicas para 102 muestras. Para *Ganoderma* se registraron 81 colecciones pertenecientes a la especie *G. applanatum*, 5 a *G. cf. applanatum* y 2 a *G. aff. applanatum*; 17 a *G. subformicatum*, 1 a *G. parvulum* y 3 a *G. stipitatum*. Para *Amauroderma* se identificaron 2 colecciones de *A. praetervisum* y 4 de *A. schomburgkii*. Además, se identificaron 13 especies de *Ganoderma* y 3 de *Amauroderma* que podrían ser especies nuevas. Se comprobó que las muestras ecuatorianas de *G. subformicatum*, *G. parvulum*, *G. stipitatum*, *A. praetervisum* y *A. schomburgkii* se encuentran cercanamente relacionadas con otras cepas neotropicales de Brasil; mientras que las colecciones de *G. applanatum* se encuentran claramente diferenciadas de muestras de zonas templadas y cercanamente relacionadas con colecciones neotropicales. La plasticidad morfológica, así como la falta de secuencias en GenBank para estos géneros, son los principales problemas en la identificación taxonómica. El presente es un estudio preliminar de la diversidad de *Ganoderma* y *Amauroderma* que aporta al conocimiento de la familia Ganodermataceae y del reino Fungi en el Ecuador.

**Palabras clave:** *Amauroderma*, *Ganoderma*, hongos, ITS.

## 2. ABSTRACT

Fungi of the genus *Ganoderma* and *Amauroderma* are world renowned for their medicinal properties as well as being important plant pathogens. The aim of this study was to conduct a preliminary study of the diversity of the genus *Ganoderma* and *Amauroderma* in Ecuador. Fourteen locations were visited in the eastern and western side of the Andes in Ecuador. 156 collections corresponding to 19 species of *Ganoderma* and 5 of *Amauroderma* were obtained. There were 6 collections that were identified only to the family level. Taxonomic identification was based on morphological characteristics and the sequence of the ITS region of rDNA for 54 samples, and only on morphological characteristics for 102 samples. For *Ganoderma*, 81 collections belonging to the species *G. applanatum*, 5 to *G. cf. applanatum* and 2 *G. aff. applanatum*; 17 to *G. subfornicatum*, 1 to *G. parvulum* and 3 to *G. stipitatum* were recorded. For *Amauroderma*, 2 collections of *A. praetervisum* and 4 of *A. schomburgkii* were identified. In addition, 13 species of *Ganoderma* and 3 of *Amauroderma* were found, that could correspond to new species. The Ecuadorian samples of *G. subfornicatum*, *G. parvulum*, *G. stipitatum*, *A. schomburgkii* and *A. praetervisum* are closely related to other neotropical collections from Brazil; while *G. applanatum* collections are distinct from temperate zones samples and closely related to neotropical collections. The morphological plasticity and the lack of sequences in GenBank for these genera are the main problems for taxonomic identification. This is a preliminary study of the diversity of *Ganoderma* and *Amauroderma* that contributes to the knowledge of the family Ganodermataceae and the kingdom Fungi in Ecuador.

**Keywords:** *Amauroderma*, fungi, *Ganoderma*, ITS.

### 3. INTRODUCCIÓN

El Ecuador es considerado uno de los lugares más biodiversos del planeta, ya que alberga una gran cantidad de especies de vertebrados, invertebrados y plantas (Bass, 2010). Existen cálculos aproximados del número de especies de cada grupo, sin embargo, no se menciona la diversidad del reino Fungi. Ha sido poca la atención que se le ha dado a este muy importante grupo de organismos dentro del ecosistema. Actualmente, se estima que existen alrededor de 5,1 millones de especies de hongos en el mundo, de las cuales se han descrito tan sólo unas 70 000, es decir, apenas se conoce el 1,4% de hongos a nivel mundial (Blackwell, 2011). Países tropicales, ricos en diversidad biológica como Ecuador, son los que albergan a la mayoría de estas especies (Blackwell, 2011), no obstante, el conocimiento del reino Fungi en estas zonas es muy escaso. Esto hace evidente la necesidad global de contar con más estudios y científicos dedicados al estudio de estos organismos.

La familia Ganodermataceae (Basidiomycota) fue descrita en 1948 por Donk. Esta familia se caracteriza por poseer basidiosporas de doble pared, con una capa exterior (exosporium) relativamente delgada y hialina, y el interior (endosporium) generalmente pigmentado, grueso y a menudo ornamentado, raramente liso. Es una familia cosmopolita que provoca pudrición blanca en su hospedero (Seo y Kirk, 2000). Esta familia actualmente incluye cuatro géneros: *Amauroderma*, *Ganoderma*, *Haddowia* y *Humphreya* (Kirk *et al.*, 2008). Los hongos de la familia Ganodermataceae son de importancia económica ya que incluyen varias especies con propiedades medicinales muy importantes; además, estos hongos juegan un papel crucial en el ciclo de nutrientes de los ecosistemas al ser uno de los más importantes degradadores de lignina de la naturaleza. Esta familia también es causante de grandes pérdidas económicas por ser patógenos importantes,

principalmente en plantaciones de palma (Ryvarden, 2004; Paterson, 2007).

### 3.1 GÉNERO *Ganoderma*

El género *Ganoderma* fue descrito por el micólogo finlandés Peter Adolf Karsten en 1881, con *G. lucidum* proveniente de Inglaterra como la especie tipo. Posteriormente, el género *Ganoderma* fue subdividido en dos subgéneros: *Ganoderma* y *Elfvigia*. El subgénero *Ganoderma* basado en *G. lucidum* corresponde a las especies lacadas, que tienen una superficie brillante, y el subgénero *Elfvigia* basado en *G. applanatum* a las especies con cuerpo fructífero no lacado (Moncalvo y Ryvarden, 1997; Gottlieb y Wright, 1999b). De esta forma, *G. lucidum* y *G. applanatum* son los dos complejos de especies importantes en la historia y la nomenclatura de este género (Muthelo, 2009). Estas dos especies son de las menos comprendidas y también son las que poseen la mayor cantidad de especímenes mal identificados (Seo y Kirk, 2000).

Los hongos del género *Ganoderma* pueden ser anuales o perennes, y se adhieren fuertemente a su sustrato, la madera. La pudrición blanca producida por *Ganoderma* se basa en la degradación de los componentes de la pared celular de la madera, gracias a que poseen enzimas extracelulares conocidas como enzimas modificadoras de lignina (Moncalvo *et al.*, 1995a; Blanchette, 1987). Este género de hongos posee tres de las mayores familias de enzimas modificadoras de lignina: lacasas, peroxidasas dependientes de magnesio y peroxidasas de lignina (D'Souza, 1999); por esta razón, el género *Ganoderma* es considerado uno de los principales agentes involucrados en la descomposición de madera de los bosques tropicales, jugando un papel crucial en su dinámica.

Además de su importancia como agentes descomponedores, existen varias especies del género *Ganoderma* que son reconocidas y utilizadas por sus propiedades medicinales, como por ejemplo: *G. lucidum*, *G. tsugae*, *G. sinense*, *G. applanatum*, *G. australe*, *G. multipileum*, *G. sichuanense* y *G. capense* (Chen, 2004; Wang *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012). Especialmente en China y otros países asiáticos, su uso data de hace miles de años. El primer registro que se tiene del uso de estos hongos es de los años 221-207 a.C. por el emperador de China Shih-huang (Stamets, 2000). En Japón *G. lucidum*, se la conoce como Reishi o Mannentake que significa hongo de los 10.000 años, mientras que en China o Corea se la conoce como Ling Chi, Ling Zhi o Ling Chih, que significa hongo o planta de la inmortalidad (Stamets, 2000).

El gran potencial medicinal que tienen los hongos del género *Ganoderma* se ha corroborado científicamente para las siguientes propiedades: Antitumorales (Lin y Zahng, 2004; Wu *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 1997), inmunoreguladores (Ling y Zahng, 2004) eficacia en tratamientos de cáncer de cérvix (Lovy *et al.*, 2013), colon (Thyagarajan *et al.*, 2010), seno (Wang *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2011) y pulmón (Tang *et al.*, 2006). Este potencial se debe principalmente a la presencia de triterpenoides, polisacáridos, esteroides y otros ácidos ganodéricos (Moreno *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2001; Boh *et al.*, 2000). Se ha demostrado que nueve especies del género *Ganoderma* pueden ser útiles en el tratamiento del cáncer de pulmón y de seno (Moreno *et al.*, 2011).

Hasta hace pocos años se denominaba *G. lucidum* a todos los hongos conocidos como Reishi, sin embargo, estudios recientes demuestran que el nombre común de Ling Zhi o Reishi en realidad abarca a muchas más especies que solamente *G. lucidum*. (Wang *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2009; Stamets, 2000). Wang *et al.* (2012) demostraron que en China el nombre correcto para *G. lucidum* sería *G. sichuanense* ya que según análisis

filogenéticos en base a secuencias de ADN, la especie *G. lucidum* pertenecería únicamente a Europa, mientras que *G. multipileum* sería el nombre para la especie en Asia tropical (Wang *et al.*, 2009). En Norte América 4 especies son conocidas bajo el nombre común de Reishi: *G. oregonense*, *G. tsugae*, *G. curtsii* y *G. lucidum* (Stamets, 2000). Actualmente la base de datos Mycobank (Junio, 2013) reporta 253 especies descritas de *Ganoderma* mientras que Index Fungorum (Junio, 2013) reporta 427. Según Moncalvo (1995a) se han descrito 250 especies a nivel mundial; sin embargo, existe incertidumbre sobre el estatus taxonómico de muchas de estas especies. Por esta razón, la taxonomía de *Ganoderma* es considerada como caótica y uno de los géneros más difíciles entre los Polyporales (Ryvarden, 1994).

Tales problemas taxonómicos se deben a la mala utilización de nombres, ausencia de ejemplares tipo, el gran número de sinonimias y diferencias en caracteres morfológicos que a menudo son muy difíciles de distinguir (Ryvarden, 1994; Smith y Sivasithamparam, 2003).

La taxonomía del género *Ganoderma* necesita de revisión. Existen inconsistencias en las designaciones de géneros y especies (Ryvarden, 1994), debido a que las descripciones se basan en caracteres morfológicos del basidiocarpo las cuales son compartidas por diferentes especies (Adaskaveg y Gilbertson, 1986; Gottlieb y Wright, 1999a). Varios estudios han utilizado diferentes métodos alternativos para identificación, tales como pruebas de compatibilidad sexual, presencia de clamidosporas, (Adaskaveg y Gilbertson, 1989; Moncalvo, 2000; Adaskaveg y Gilbertson 1986; Pilotti *et al.*, 2002) análisis de isoenzimas (Gottlieb y Wright, 1998; Smith y Sivasithamparam, 2000b) o técnicas basadas en secuencias de ADN (Moncalvo *et al.*, 1995a; Moncalvo *et al.*, 1995b; Gottlieb y Wright, 2000; Smith y Sivasithamparam, 2000a; Hong y Jung, 2004; Wang *et*

al., 2012) para determinar la identidad de las especies de *Ganoderma*.

Actualmente las técnicas moleculares son una poderosa herramienta de diagnóstico para dilucidar la taxonomía de estas especies. La aplicación de estas técnicas ha resuelto algunos problemas a nivel específico, pero a nivel de género la taxonomía sigue presentando grandes inconsistencias (Muthelo, 2009).

*Ganoderma* es un género cosmopolita, se lo puede encontrar tanto en zonas templadas como en los trópicos donde tiene su foco de diversidad (Kaliyaperumal, 2013). La distribución zonal de este género va a estar determinada por sus especies. Según Moncalvo (2000) la distribución de algunas especies de *Ganoderma* estaría corroborada filogénicamente y sería de la siguiente manera:

**Grupo 1:** Complejo *Ganoderma lucidum* sensu lato. Este grupo contiene a *G. lucidum* sensu stricto junto con otros *Ganodermas* lacados.

Grupo 1.1: Complejo *G. lucidum* sensu stricto. Tiene una distribución en las regiones templadas tanto del hemisferio norte como del hemisferio sur. Las especies europeas que pertenecen a este grupo son: *G. lucidum*, *G. carnosum*, *G. valesiacum*. Las especies norteamericanas son: *G. tsugae* y *G. oregonense* mientras que *G. ahmadii* es proveniente de Pakistán.

Grupo 1.2: Complejo *G. resinaceum* sensu lato. En este grupo la especie *G. resinaceum* se encuentra en Europa, África, Norte América y Sudamérica. Dentro de este grupo también se encuentra el complejo *G. weberianum*, el cual abarca 5 especies: *G. weberianum*, *G. microsporium*, *G. cf. capense*, *G. lauterbachii* y *G. rivolosum*. Todo este complejo se distribuye en Asia tropical y *G. trengganuense* se encuentra en Malasia y Vietnam.



Grupo 1.3: Complejo *G. curtisii*. Las especies de *G. curtisii* y *G. meredithae* se distribuyen en Norte América y Costa Rica, mientras que especies erróneamente identificadas como *G. tsugae* o *G. lucidum* se encuentra en Corea, China, Taiwán, Japón y Vietnam.

Grupo 1.4: Complejo *G. tropicum* sensu lato. Dentro de este grupo se encuentran: *G. lucidum* (mal identificado), *G. tropicum* y *G. fornicatum* que se encuentran en Taiwán. Existen algunas especies lacadas con basidiocarpos morados a naranja de Costa Rica sin descripción, que también pertenecen a este grupo; además, una especie de Argentina, *G. orstedii*, que actualmente se la ha declarado sinónimo de *G. resinaceum* y una especie de África *G. septatum*.

**Grupo 2:** Cepas tropicales, subtropicales y algunas especies de regiones templadas de Japón, China y Corea.

Grupo 2.1: Complejo de hongos que crecen solamente en palmas: *G. zonatum* de Florida, *G. boniense* del sud este asiático, la región Australo-Pacífico y Japón, y colecciones no identificadas de Zimbabwe e India.

Grupo 2.2: Complejo *G. tomatum* que se distribuye en Vietnam, también existen hongos sin identificar, los cuales tienen un contexto café provenientes de Costa Rica y Puerto Rico.

Grupo 2.3: Complejo *G. balabascence* cuya distribución se encuentra en el territorio de Vietnam. Grupo 2.4: Algunas especies de *Ganoderma* todavía sin identificación que se encuentran en Malasia.

Grupo 2.5: Complejo *G. sinensis*. En este complejo incluye especies de *G. sinensis* que se encuentran en China, *G. formosanum* que se distribuye en Taiwan, actualmente a esta especie se la considera sinónimo de *G. sinensis*, y la especie *G. neojaponicum* se distribuye en Japón y Corea.

**Grupo 3:** Complejo *G. applanatum-australe*. Antiguamente se creía que la diversificación de especies de este complejo: *G. applanatum* y *G. australe*, se dio con la separación de Gondwana de Laurasia hace 120 millones de años (Ladiges *et al.*, 1991; Moncalvo y Buchanan, 2008), pero actualmente según Moncalvo y Buchanan (2008) se cree que la diversificación de este complejo se dio gracias a pequeños eventos de dispersión de esporas a largas distancias. Hay registro de *G. australe* en Japón, Taiwan, Cambodia, Tailandia, Singapur, Papúa Nueva Guinea, Malasia, Tazmania-Australia, Australia, Nueva Zelanda y Chile, mientras que existe registro de *G. applanatum* en Hungría, Alemania, Carolina del Norte-USA, Oregon-USA, Virginia-USA, Florida-USA, Reino Unido, Corea del Sur, Yunnan-China, Costa Rica, Ecuador, Guyana Francesa, China, y Sud África. La distribución mundial de algunas especies de *Ganoderma* se presenta en el (Anexo 1).

### 3.2 GÉNERO *Amauroderma*

El género *Amauroderma* fue descrito por Murril con la especie tipo *Fomes regulicolor* Berkeley, 1886 (= *Amauroderma schomburgkii* Montagne y Berkeley, 1920) proveniente de Cuba. *Amauroderma* se caracteriza por poseer esporas de doble pared, pero a diferencia de *Ganoderma*, sus esporas no son truncadas en el ápice, sino que pueden ser globosas o subglobosas (Santana y Leite, 2013). Actualmente se estima existen unas 30 especies de este género en el neotrópico (Jiao *et al.*, 2013). Index Fungorum (Junio, 2013) reporta que actualmente existen 126 binomios pertenecientes a *Amauroderma* a nivel mundial, mientras que Mycobank (Junio, 2013) reporta 119 especies pertenecientes a este género.

Las especies de *Amauroderma* son especialmente reconocidas por sus propiedades

medicinales. Estudios recientes demuestran que *A. rude* posee actividad anticancerígena en linajes celulares de cáncer de seno, inclusive teniendo mayor eficacia en la eliminación de células cancerígenas que *G. lucidum* (Jiao *et al.*, 2013). El ciclo de vida de estos géneros se muestra en el Anexo 2.

Se conoce muy poco acerca de la distribución de *Amauroderma* a nivel mundial. Los estudios que se han realizado hasta el momento han sido en su mayoría en los trópicos. Existen algunos registros en regiones templadas, como por ejemplo de *A. rugosum*. En los trópicos se han identificado aproximadamente 30 especies de *Amauroderma* (Jiao *et al.* 2013).

### **3.3 CARACTERES TAXONÓMICOS UTILIZADOS PARA IDENTIFICAR ESPECIES DE *Ganoderma***

La taxonomía de los basidiomicetos tradicionalmente se ha basado en las características morfológicas de los basidiocarpos. Sin embargo, debido a la plasticidad morfológica o la ausencia de cuerpos fructíferos en ciertas épocas del año, (Moncalvo y Ryvarden, 1997; Gottlieb y Wright, 1999a) actualmente la identificación de especies de *Ganoderma* se basa en secuencias del ADN. Análisis bioquímicos o pruebas de apareamiento, también son métodos utilizados para la identificación de especies de este género (Gottlieb y Wright, 1998; Smith y Sivasithamparam, 2000b).

#### **3.3.1 CARACTERES MORFOLÓGICOS DE LOS BASIDIOCARPOS**

Las características observadas tradicionalmente en los cuerpos fructíferos son: el tamaño, el color del contexto, la forma del estípite, la forma en que el estípite se adhiere al

sustrato, la especificidad al hospedero y la distribución geográfica. (Furtado, 1962; Gottlieb y Wright, 1999a; Pilotti *et al.*, 2004). Sin embargo, varios estudios han demostrado que la morfología del cuerpo fructífero debe usarse con precaución, debido a su plasticidad fenotípica y la naturaleza pleomórfica de algunas especies (Ryvarden, 1994; Ryvarden, 2000).

Entre los caracteres microscópicos que se analizan se encuentra: la morfología de las basidiosporas, tipo de sistema de hifas, así como la estructura de la corteza del píleo (Adaskaveg y Gilbertson, 1986; Gottlieb y Wright, 1999a; Smith y Sivasithamparam, 2003; Torres y Guzmán, 2012). Hasta hace algunos años el tamaño y la morfología de las basidiosporas eran consideradas como las características microscópicas más importantes para la taxonomía de *Ganoderma* (Furtado, 1962). Sin embargo, Steyaert (1972, 1975) observó que el tamaño de las basidiosporas de algunas especies, por ejemplo, *G. tornatum*, varía con la humedad y latitud geográfica. Debido a eso, Ryvarden (1994) afirmó que el tamaño de las basidiosporas debe utilizarse con cuidado para distinguir las especies de *Ganoderma*.

El sistema de hifas en *Ganoderma* es consistentemente di-trimítico (Torres y Guzmán 2012). Las conexiones en grapa o también llamadas fíbulas son difíciles de observar en las muestras secas pero son fácilmente observadas en el contexto de especímenes frescos y partes jóvenes del himenio. Sin embargo, el sistema de hifas no es importante en la separación de especies de *Ganoderma* debido a que está influenciado por factores ambientales (Ryvarden, 1994; Seo y Kirk, 2000; Torres y Guzmán, 2012).

En *Ganoderma* el píleo se puede unir al estípite de forma lateral o central. También existen basidiocarpos imbricados y sésiles (Seo y Kirk, 2000). El color del contexto, que

son las hifas que se encuentran en el píleo debajo de la corteza, también conocidas como la carne del hongo, varía de blanco a marrón o negro, y puede cambiar con la edad del cuerpo fructífero o tras el secado (Muthelo, 2009). La morfología de los basidiocarpos puede variar, esto es debido a las diferentes condiciones ambientales durante el desarrollo (Seo y Kirk, 2000).

### 3.3.2 PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD SEXUAL

Las pruebas de compatibilidad sexual son utilizadas para determinar si dos aislados pertenecen a la misma especie biológica. Si dos cepas intercambian núcleos, son sexualmente compatibles y forman micelio dicariótico, se considera que pertenecen a la misma especie biológica (Adaskaveg y Gilbertson, 1986). La compatibilidad sexual entre los aislados de *Ganoderma* se determina por la ausencia o presencia de una línea de demarcación entre las cepas pareadas en un medio de cultivo. Pruebas de compatibilidad sexual han sido útiles en algunos estudios taxonómicos sobre *Ganoderma*, por ejemplo Adaskaveg y Gilbertson (1986) encontraron que *G. resinaceum* de Europa era fértil con *G. lucidum* de América del Norte. En consecuencia, consideraron que *G. resinaceum* sea sinónimo de *G. lucidum*. (Adaskaveg y Gilbertson, 1986). Sin embargo, un inconveniente es que dos especies que son compatibles sexualmente, filogenéticamente pueden ser distintas, como en el ejemplo anterior donde estudios posteriores determinaron que *G. lucidum* y *G. resinaceum* son especies filogenéticamente diferentes (Moncalvo *et al.*, 1995a, b; Hong y Jung, 2004).

### 3.3.3 CARACTERES DE AISLADOS EN MEDIOS DE CULTIVO

Las características del crecimiento miceliar en medios de cultivo, como la

producción de clamidosporas, y la tasa y temperatura de crecimiento, se han utilizado para diferenciar especies de *Ganoderma* (Adaskaveg y Gilbertson 1986, 1989; Seo y Kirk, 2000). Normalmente los aislados de *Ganoderma* presentan un crecimiento miceliar de color blanco a amarillo, que se vuelve más oscuro conforme el micelio va envejeciendo. Dependiendo de la especie, la temperatura óptima de crecimiento varía (Stamets, 2000). Las hifas producen varias estructuras en los aislados como: hifas generativas con fíbulas, hifas esqueléticas, células cuticulares, vesículas y clamidosporas (Adaskaveg y Gilbertson, 1989).

A pesar de las dificultades que presentan los caracteres morfológicos en la identificación de especies de *Ganoderma* y *Amauroderma*, éstos siguen siendo una importante herramienta para lograr una correcta identificación (Torres *et al.*, 2012; Ryvarden, 2004).

#### 3.3.4 ANÁLISIS DE SECUENCIA DE ADN

El análisis de secuencias de ADN ha resultado en una herramienta indispensable para poder diferenciar especies de *Ganoderma*. Como se mencionó anteriormente la taxonomía basada únicamente en la morfología o caracteres microscópicos, no son suficientes para una correcta identificación (Muthelo, 2009). Desde que se descubrió que la secuencia de nucleótidos de un producto de PCR (amplicón) puede revelar polimorfismos, se introdujo la posibilidad de usar estos polimorfismos únicos para poder identificar especies (Crous *et al.*, 2009). Si es que se compara el mismo segmento de ADN entre diferentes especies de hongos, es posible inferir la relación filogenética basado en los polimorfismos que estén presentes.

La región estandarizada de ADN (código de barras) que puede ser aplicada como un marcador genético especie-específico en hongos, es el espaciador transcrito interno (ITS); este se encuentra dentro del operón de ADNr, el cual consiste en la subunidad pequeña (18S), la región ITS1, 5.8S, ITS2 y la subunidad grande (28S) del ribosoma. Un código de barras ideal debe combinar una mínima variabilidad intraespecífica con una suficiente variabilidad interespecífica, como lo hace la región ITS en hongos (Crous *et al.*, 2009). En el caso de *Ganoderma* y *Amauroderma*, la región ITS ha contribuido para la identificación de especies ya que proporciona suficiente resolución en varios niveles taxonómicos (Muthelo, 2009).

Existen varios aspectos importantes que considerar al utilizar la identificación molecular. Primeramente, es indispensable contar con una base de datos fiable en su identificación taxonómica. Para los hongos de la familia Ganodermataceae se manejan varios sinónimos taxonómicos para la misma especie (Koljalg *et al.*, 2013), lo que dificulta la designación de las muestras que se analizan. Establecer una única designación permitiría una mejor clasificación taxonómica del grupo. En segundo lugar, hay relativamente pocas secuencias disponibles en GenBank de *Ganoderma* y *Amauroderma* comparadas con el número de especies que han sido descritas en base a morfología, especialmente del neotrópico. Contar con una mayor cantidad de datos contribuiría al avance del estudio de Ganodermataceae en la región. Adicionalmente, el código de barras utilizado para el reino Fungi es la región ITS del ADNr, sin embargo, el uso de otros loci como SSU, LSU, RPB1, RPB2 y TEF1-alpha podrían ayudar a esclarecer ciertas relaciones filogenéticas en Polyporales (Justo y Hibbet, 2011).

El presente proyecto pretende contribuir al conocimiento de la familia Ganodermataceae en el Ecuador, mediante muestreos de los géneros *Ganoderma* y *Amauroderma* en varias localidades de la Cordillera de los Andes. Con el uso de características morfológicas y genéticas se identificaron las colecciones, y se realizaron análisis filogenéticos para determinar la relación entre las especies ecuatorianas encontradas con especies descritas a nivel mundial. Es poco lo que se conoce del género *Ganoderma* y *Amauroderma* en el país por lo que el presente estudio aportará a su descripción y catálogo, además de ser una contribución importante en el conocimiento de la diversidad fúngica en el Ecuador.



### 3.4 OBJETIVOS

#### 3.4.1 OBJETIVO GENERAL:

Realizar un estudio preliminar de la diversidad de hongos de los género *Ganoderma* y *Amauroderma* en el Ecuador.

#### 3.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Clasificar con base en características morfológicas y/o genéticas las colecciones de hongos obtenidas en las estribaciones de la Cordillera Oriental y Occidental del Ecuador.
- Comparar filogenéticamente los hongos identificados con otros reportados en otras áreas geográficas, con base en las secuencias de ADN ribosomal disponibles públicamente en el GenBank.
- Determinar si las colecciones ecuatorianas son diferentes de aquellas disponibles en otras regiones del mundo mediante la comparación de secuencias de ADNr.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 LOCALIDADES DE MUESTREO

Se realizaron colecciones de los cuerpos fructíferos de los géneros *Ganoderma* y *Amauroderma* al lado oriental y occidental de la Cordillera de los Andes del Ecuador, en la provincia de Esmeraldas en las localidades de Bilsa, Caimito y Canandé; en la provincia de Manabí, las localidades de Lalo Loor y San Vicente; en la provincia de Pichincha, las localidades de Nanegal y Mindo; en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas en la localidad de Otongachi; en la Provincia de Sucumbíos, la Reserva de producción faunística Cuyabeno; en la provincia de Napo, las localidades de Chimbadero y Jatun Sacha; en la provincia de Orellana, la Estación Científica Yasuní (ECY); y en la provincia de Zamora, las localidades de Nangaritza y el Parque Nacional Podocarpus (Figura 1).

Los muestreos en las localidades de Bilsa, Caimito, Canandé, Lalo loor, Cuyabeno, Jatun Sacha, Yasuní, Nangaritza y Podocarpus se los realizó por senderos establecidos con breves desviaciones en el caso de observar algún tronco caído que se encontrara fuera de los senderos. En las localidades de San Vicente, Nanegal, Mindo, Chimbadero, al no existir senderos, se realizó caminatas por los bosques en busca de troncos caídos y árboles en descomposición. En cada localidad (excepto Nanegal y San Vicente) se realizó dos muestreos diarios, uno por la mañana y otro por la tarde, cada uno de 4 horas. No se realizó la misma cantidad de muestreos en Nanegal y San Vicente debido al poco tiempo que se estuvo en estas localidades.

Las muestras fueron analizadas morfológicamente, luego secadas, catalogadas y almacenadas en el fungario QCA(M) de la Pontifica Universidad Católica del Ecuador. Se

hicieron cultivos puros de las muestras obtenidas y posteriormente se realizaron los análisis filogenéticos, como se describe a continuación.

## **4.2 MANEJO EN EL CAMPO**

### **4.2.1 RECOLECCIÓN MUESTRAS**

Se recolectaron los cuerpos fructíferos de *Ganoderma* y *Amauroderma* en todos los troncos caídos o en descomposición observados, además de todas las raíces parasitadas en las que se observaran basidiocarpos, esto se lo realizó en todos los senderos de todas las localidades visitadas. Se usó fundas de papel o separadores plásticos. Se tomaron 1-2 cuerpos fructíferos por muestra. Se obtuvieron esporas de individuos jóvenes colocando papel aluminio por 12-24 horas cubriendo el cuerpo fructífero. Los hongos fueron fotografiados en la parte abaxial y adaxial, además de una fotografía que muestre el número de poros por milímetro. Se registraron los datos de colección que incluían localidad, fecha de colección, colector, y sustrato (hojarasca, tronco en descomposición, raíces, tierra, excrementos y plantas vivas). Al cuerpo fructífero obtenido se lo secó de 8-14 horas a una temperatura de 35 °C – 40 °C con el uso de una secadora, la cual consistía en una hornilla eléctrica dentro de un cajón de madera.

### **4.2.2 OBTENCIÓN DEL CULTIVO PURO**

Se realizó los aislados de las muestras obtenidas el mismo día de su colección. Se lavó el cuerpo fructífero con agua y se colocó una pequeña gota de alcohol en la base del estípite. Posteriormente se hizo un corte de aproximadamente de 1 ó 2 cm en la base del estípite con un bisturí estéril, se esterilizó el bisturí nuevamente y se tomó una muestra

pequeña de las hifas que se encuentran en el interior del corte, tratando de no contaminar la muestra con la superficie externa del hongo. Se colocó cuatro pedazos de cada muestra en una placa de cultivo (Stamets, 2000 con modificaciones) y se las mantuvo como se describe adelante. Se prepararon cuatro diferentes medios de cultivo cuya preparación se presenta en el Anexo 3.

Una vez obtenido el cultivo puro se colocó  $1\text{cm}^2$  de agar colonizado en 10 ml de caldo Sabouraud previamente esterilizado. Este cultivo en líquido se lo utilizará para el posterior almacenamiento de las cepas a mediano plazo, como se describe a continuación.

### **4.3 MANEJO EN LABORATORIO**

Se incubó las placas de agar de cada muestra en una incubadora de laboratorio (Memmert INE 200) entre  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  –  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se controló el crecimiento de los hongos diariamente. Una vez que se observó crecimiento se aisló el micelio inmediatamente en placas de PDA con levadura y sin antibiótico. Cuando no se observó crecimiento miceliar después de 7 días, se tomaron los pedazos de cuerpo fructífero que fueron colocados en los medios con antibióticos y se los trasladó a un nuevo medio de PDA solamente con levadura para su crecimiento.

#### **4.3.1 PRESERVACIÓN DE CEPAS**

Para almacenar a mediano plazo (1 año) los cultivos puros obtenidos se los colocó en grano de cebada con cáscara. Para esto, se hirvió los granos de cebada durante 45 minutos y se los cernió descartando toda el agua. Se colocó 3% de sulfato de calcio del peso del grano y se mezcló. Se colocó la mezcla en tubos de ensayo de 16 x 100 mm,

llenando los tubos 2/3 de su capacidad. Se esterilizó los tubos con el grano a 120 °C por 20 minutos.

Bajo cámara de flujo laminar se colocaron varios pedazos de 1cm<sup>2</sup> de agar o 1ml de Caldo Sabouraud colonizado con la cepa pura del hongo dentro de los tubos con grano y se incubó entre 27 °C - 30 °C por 15 días hasta que el micelio colonizó todo el grano (Figura 2) (Veena y Meera, 2010 con modificaciones). Los tubos fueron luego almacenados a temperatura ambiente en oscuridad.

#### 4.3.2 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN

Para la extracción del ADN se siguió un protocolo estándar en base a tiocianato de guanidina (Anexo 4) a partir del cuerpo fructífero o del micelio obtenido de cultivo puro. Se maceró manualmente el tejido con la ayuda de arena de cuarzo y de un micropistilo. Para algunas muestras no se logró obtener un cultivo puro, debido a contaminaciones que se presentaron durante el aislamiento, por lo que se realizó la extracción de ADN directamente del cuerpo fructífero. Para esto, se realizó un corte en el estípite, se tomó hifas del interior, y se continuó el protocolo de extracción.

Una vez obtenido el ADN se determinó la calidad y concentración de cada muestra utilizando un espectrofotómetro Nanodrop 1000 (Thermo Scientific). Se ajustó la concentración del ADN a 20 ng/μL con agua Milli-Q para la reacción de PCR.

### 4.3.3 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

La identificación molecular de las especies se realizó mediante análisis de la secuencia de la región ITS1-5.8S-ITS2 del ADN ribosomal, utilizada ampliamente como código de barras para hongos (Martin, 2005). Se emplearon los cebadores ITS1, ITSIF, ITS4, e ITS4B (White *et al.*, 1990, Gardes y Bruns, 1993) cuyas secuencias se describen en la Tabla 1, según la metodología descrita por Gardes y Bruns (1993). La reacción de amplificación por PCR se realizó en un volumen final de 25  $\mu$ L, con 1 ng/ $\mu$ L ADN, 1X PCR Buffer (Invitrogen), 3 mM de MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen), 0.2 mM dNTPs (Invitrogen), 0.2  $\mu$ M de cada cebador, y 0.1 U/ $\mu$ L Taq Polimerasa (Invitrogen). La PCR se llevó a cabo en un termociclador (Multigene Labnet), con la siguiente configuración: 1 ciclo de 94 °C durante 3 minutos; 35 ciclos de: 94 °C por 30 segundos, 54 °C por 60 segundos y 72 °C por 1 minuto; 1 ciclo de 72 °C por 10 minutos, y 4 °C infinito para la conservación de las muestras (Gardes y Bruns, 1993 con modificaciones).

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 1% (AGAR-LE-500. AXYGEN Biosciences) en 44.5 mM Tris base, 44.5 ácido ascórbico y 12 mM EDTA, obteniendo 0,5X de TBE p.H. 8.3 (Tris Borato EDTA). Los geles fueron teñidos por 15 minutos con 10  $\mu$ L de 1X SYBR Safe (Invitrogen) diluido en 100ml de Buffer TBE 1X. Las bandas se observaron bajo un transiluminador (Safe Imager, Invitrogen). Las muestras que mostraron presencia de una banda de alrededor de 600pb recibieron tratamiento con la enzima Exosap IT (USB Corporation) al 20%, para la degradación de residuos de cebadores y nucleótidos según las indicaciones del fabricante, previo a ser enviadas a la compañía Macrogen en Corea para su secuenciación.

#### 4.3.4 ANÁLISIS DE SECUENCIAS DE LA REGIÓN ITS

Las secuencias obtenidas se analizaron y alinearon manualmente utilizando el programa Geneious 7.1.4 (Bio Matters Ltd. Copyright © 2005-2014). Se eliminaron las regiones 18S y 28S de las secuencias consenso, resultando en secuencias de alrededor de 550pb que incluían la región ITS1, 5.8S, ITS2 del ADNr. Se identificó la especie de las muestras al comparar las secuencias obtenidas con secuencias disponibles en GenBank a través del programa BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). El criterio considerado para designar especies fue un porcentaje de máxima identidad superior al 98% y una cobertura igual al 100%.

Para el análisis filogenético se utilizó un criterio de Máxima Verosimilitud. El modelo de sustitución utilizado para la construcción del árbol fue escogido a través del programa Jmodel Test 2.1.5 el cual proporcionó el modelo TIM3+G (012032). La construcción del árbol filogenético se realizó en el programa Geneious con un *bootstrap* de 100 réplicas. Para la construcción del árbol filogenético se usaron secuencias de otros estudios disponibles públicamente en GenBank, se usaron las secuencias que poseían un porcentaje de identidad y cobertura cercanos a las muestras analizadas (Anexo 5). Se usó como grupo externo a *Tomophagus colossus*. *Tomophagus* es un género monoespecífico y se lo escogió debido a que análisis moleculares han demostrado que *Tomophagus* es un género diferente pero muy emparentado a *Ganoderma* o *Amauroderma* (Hong y Jung, 2004). Se usaron las secuencias de *T. colossus* de Brasil y Taiwán ya que poseían un porcentaje de identidad y cobertura cercanos a las muestras de este estudio.

#### 4.3.5 IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA

La identificación de las muestras que fueron analizadas solo morfológicamente se basó en las características de los cuerpos fructíferos de los cuales se logró una identificación hasta especie en base a secuencias del ADNr y morfología. Se analizó las principales características que presentaban estos basidiocarpos y se los comparó con los especímenes que no fueron secuenciados. Para el análisis de las características morfológicas se usó como base las utilizadas por Wang *et al.* (2012) y Ryvarden (2004).

Las características morfológicas utilizadas fueron: apariencia pilear (lacado, no lacado, opaco más colores del píleo), superficie pilear (reniforme y cóncavo, reniforme y convexo, reniforme y plano, circular y cóncavo, circular y convexo), grosor del píleo (> 1cm grueso, <1cm delgado), corteza pilear (dura=no ingresa la uña, suave=ingresa la uña), estípite (presente, ausente), adherencia del estípite (central, lateral), longitud del estípite (mayor al radio del píleo=largo, menor al radio del píleo=corto), color del contexto café, café-negro, negro, blanco, blanco-amarillento), depósitos de resina (si, no), color del himenio (blanco, blanco-amarillento, blanco-café), poros por milímetro (número de poros en 1 mm lineal) color esporada, forma esporas, tamaño esporas, sustrato (troncos en descomposición, raíces), y además la región natural donde habita, siguiendo la clasificación de regiones naturales del Ecuador establecida por Ron *et al.* (2014) ( BMO: Bosque Montano Oriental. BHTA: Bosque Húmedo Tropical Amazónico. BHTC: Bosque Húmedo Tropical del Chocó. BDC: Bosque Deciduo de la Costa. BMOC: Bosque Montano Occidental. CTA: Cosmopolita). El número de poros por milímetro se lo obtuvo del promedio de las muestras analizadas, pero en el caso de los especímenes que solo contaban con 1 muestra, ésta fue la única medición.



Las basidiosporas fueron fotografiadas bajo un microscopio electrónico de barrido en el Instituto Nacional de Investigación y Salud Pública (INSPI). Las esporas de las colecciones<sup>a</sup> G202 y G195 fueron fotografiadas en el Fungario QCA(M). El tamaño de las esporas de largo por ancho en  $\mu\text{m}$  se lo calculó del rango de tres esporas de cada esporada obtenida, esto se lo realizó para las muestras G102, G219 y G220. Para las muestras<sup>a</sup> G202 y G195 se midió el tamaño de largo por ancho en  $\mu\text{m}$  de 16 y 10 muestras respectivamente y se obtuvo el rango de tamaño. Se analizaron las esporadas de estas muestras ya que eran las únicas esporas jóvenes y en buen estado disponibles al momento de realizar las fotografías.

<sup>a</sup>Las palabras colecciones y muestras son usadas como sinónimo en el presente estudio.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 MUESTREO

Se obtuvo un total de 156 colecciones pertenecientes a la familia Ganodermataceae en las 14 localidades visitadas. Se obtuvieron registros fotográficos del cuerpo fructífero de las especies de *Ganoderma* tanto de la parte adaxial como abaxial, de las esporas, del crecimiento miceliar, y del número de poros por milímetro (Figura 4); mientras que las especies de *Amauroderma* fueron fotografiadas por la parte adaxial y abaxial, y además el número de poros por milímetro (Figura 5). Los resultados de las características morfológicas analizadas se pueden observar en la Tabla 3 y se describen más adelante.

De las 156 colecciones se obtuvo cultivo puro de 117 muestras, 39 muestras no crecieron o se contaminaron en el medio de cultivo. De los 117 cultivos puros se preservaron 82 muestras, a mediano plazo, que se encuentran en el Fungario QCA(M) de la PUCE. Treinta y cinco muestras no crecieron en el sustrato de almacenamiento.

Se obtuvo la secuencia de la región ITS de 54 muestras. En 42 muestras se realizó la extracción de ADN del micelio obtenido en un cultivo puro, y de 12 muestras se realizó la extracción de ADN directamente del cuerpo fructífero (Tabla 4). Hubo 102 muestras que se identificaron únicamente en base a características morfológicas (Tabla 3). Esto se debe a que solamente podían ser secuenciadas un número determinado de muestras, por lo que se dio prioridad a la diversidad.

Para el género *Ganoderma* de las 128 muestras obtenidas, 118 se encontraron creciendo como saprófitos en troncos en descomposición mientras que solamente 10 colecciones se las encontró creciendo sobre raíces (Figura 6). Los hospederos se encontraban en un muy avanzado estado de pudrición por lo que no se pudo realizar su identificación taxonómica del hospedero.

Los cuerpos fructíferos del género *Amauroderma*, a diferencia de *Ganoderma*, se los encontró principalmente en las raíces de sus hospederos, de las 22 muestras obtenidas, 17 crecían sobre raíces (Figura 6). Pero, al igual que en *Ganoderma*, el hospedero se encontraba en un estado avanzado de pudrición lo cual impidió su identificación taxonómica.

Se obtuvo registro fotográfico de las 13 especies de *Ganoderma* (Figura 7) y tres especies de *Amauroderma* (Figura 8) identificadas únicamente hasta género. Las muestras 008 2-1, 008 2-2, G197 y CB217 identificadas como *Amauroderma* sp. no fueron fotografiadas.

Se obtuvo la esporada de 17 muestras de *Ganoderma*. En la Figura 9 se observa el óptimo estado del basidiocarpo en esporulación. Se obtuvo fotografías electrónicas de las basidiosporas de las muestras: G219 (*Ganoderma* sp5), G102 (*G. parvulum*), G220 (*G. stipitatum*). El tamaño de las esporas fue 8-9 x 3-5  $\mu\text{m}$  para *Ganoderma* sp5, 7-9 x 4-6  $\mu\text{m}$  para *G. subfornicatum* y 7 x 4-5  $\mu\text{m}$  para la muestra G220 identificada como *G. stipitatum* (Figura 4). Las esporas de *G. applanatum* (G195) y *G. parvulum* (G202) fueron fotografiadas en un microscopio óptico con un aumento de 100x obteniendo una medida de 9 x 6  $\mu\text{m}$  para *G. parvulum* y 5-7 x 3-4  $\mu\text{m}$  para *G. applanatum*.

## 5.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Morfológicamente las características más relevantes de las cuatro especies identificadas de *Ganoderma* y dos de *Amauroderma* fueron:

*G. applanatum*: Basidiocarpio no lacado, de diámetro entre 5 a 29 cm, con una corteza pilear dura. En la mayoría de casos no presentó estípites, su contexto era café-negro y sin depósitos de resina. El himenio era blanco con 6-7 poros por milímetro (Figura 4). Todas las muestras encontradas se encontraban creciendo sobre troncos en descomposición (Figura 6). Su esporada era café, con basidioesporas elipsoides truncadas en el ápice y con un tamaño de 8-9 x 3-5  $\mu\text{m}$  (Figura 4).

*G. subformicatum*: Presentaron cuerpo fructífero lacado, café-rojo con bandas amarillas o anaranjadas, con estípites (Tabla 3) y como sustrato de crecimiento troncos en descomposición (Figura 6). Poseen un himenio blanco que se vuelve oscuro al tocarlo, con 4-5 poros por mm y contexto de color café. Las basidioesporas eran elipsoides midiendo 7 x 4-5  $\mu\text{m}$  (Figura 4). Se los encontró creciendo en BMO, BHTA, BHTC y BMOC.

*G. parvulum*: Cuerpo fructífero lacado, rojo vino, con basidioma grande (>1.7–5.5 x 2.2–4 x 0.7–1.3 cm). El estípites se adhiere centralmente al píleo, no se observaron bandas resinosas oscuras en su contexto café, con himenio blanco amarillento, y 5 a 6 poros por mm. Las esporas eran elipsoides truncadas en el ápice y midiendo 9 x 6  $\mu\text{m}$  (Figura 4). A esta especie se la encontró únicamente en un BDC.

*G. stipitatum*: Cuerpo fructífero lacado rojo-café, volviéndose morado con celeste al estar seco y viejo. Con himenio blanco-amarillento, contexto blanco, y depósitos de resina sobre los tubos. Presentó 4-5 poros por milímetro, con esporas elipsoides y midiendo 7 x 4-5  $\mu\text{m}$  (Figura 4). Todas las muestras se encontraron en troncos en descomposición (Figura 6) y únicamente en los BHTC.

*A. praetervisum*: Basidiocarpo opaco color azul con bandas rojas y anaranjadas, estípite con adhesión central o lateral, su contexto e himenio de color blanco y sin bandas resinosas. Con 5-6 poros por mm y se lo encontró creciendo sobre raíces en un BHTA.

*A. schomburgkii*: Basidiocarpo opaco café con bandas café oscuro, estípite con adhesión central o lateral, su contexto blanco-amarillento, y sin resina. Con himenio blanco-café y 5-7 poros por milímetro. Se lo encontró creciendo sobre raíces en un BHTA.

La descripción completa de todas las características analizadas se lo puede observar en la Tabla 3.

### 5.3 IDENTIFICACIÓN

De las 156 muestras obtenidas, el 82,0% pertenecen al género *Ganoderma*, el 14,1% a *Amauroderma* y el 3,9% de las colecciones fueron identificadas únicamente hasta el nivel de familia. El 63,3% de las colecciones pertenecientes a *Ganoderma* fueron *G. applanatum*, el 3,9% *G. cf. applanatum*, el 1,6% *G. aff. applanatum* y el 13,3% *G. subfornicatum*. Se encontró solamente 1 muestra (0,8%) de *G. parvulum* y 3 (2,3%) de *G.*

*stipitatum*. El 14,8% (19 muestras) de los *Ganodermas* encontrados fueron identificados como *Ganoderma* sp. De las 22 colecciones de *Amauroderma* el 9,1% pertenecen a *A. praetervisum*, el 18,2% a *A. schomburgkii* y el 72,7% fueron identificadas como *Amauroderma* sp. (Tabla 2).

#### 5.4 ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El árbol filogenético resultante del análisis de máxima verosimilitud presenta 10 clados principales: 8 clados que agrupan a las diferentes especies de *Ganoderma*, 1 clado de *Amauroderma*, y el grupo externo con *T. colossus* (Figura 10).

El primer clado (C1) cuenta con muestras de *G. applanatum* de regiones templadas de: Alemania, Hungría y Estados Unidos con un soporte del 98,0%. El segundo clado (C2) con un soporte del 100,0% forma 2 grupos: el primer grupo con 4 colecciones brasileñas identificadas como *G. orbiforme*, en el segundo grupo se encuentra la especie *G. subfornicatum* con 12 especímenes del Ecuador junto con uno de Guyana Francesa.

El tercer clado (C3), con un soporte del 98,0%, se encuentra la especie *G. parvulum* con la muestra ecuatoriana G202 junto con 2 muestras brasileñas.

En el cuarto clado (C4) se encuentran las muestras G150 y G219 identificadas como *Ganoderma* sp5, este cuenta con un soporte del 95,0%.

El quinto clado (C5) comprende al género *Amauroderma* y contiene 3 subclados. El primer subclado con un soporte del 99,0% cuenta con la especie *A. praetervisum* con 2 grupos: el primero con la muestra REC18707 de Brasil y el segundo con 2 colecciones ecuatorianas (G104 y G185) y 1 brasileña GOMEZSILVA909; el segundo subclado incluye la especie *A. schomburgkii* con un soporte del 100,0%, con las muestras ecuatorianas G211, G106 y CB214 y 3 colecciones brasileñas. El tercer subclado, con un soporte del 99,0%, comprende a solamente colecciones ecuatorianas identificadas como *Amauroderma* sp. con 2 grupos: el primero con las muestras 008 2-1, G75, G197, y 008 2-2, identificadas como *Amauroderma* sp2, y el segundo grupo con las colecciones G131, CB217, CB112, G213, G149 y G148 identificadas como *Amauroderma* sp3.

El sexto clado (C6) con un soporte del 100% contiene las muestras ecuatorianas de *Ganoderma* sp. ASL828 y G198 identificadas como *Ganoderma* sp12 y *Ganoderma* sp10 respectivamente.

El séptimo clado (C7), que comprende a *G. applanatum*, tiene un soporte de *bootstrap* del 78% y cuenta con 3 grupos. El primero con muestras de Costa Rica, Sudáfrica, Reino Unido y Estados Unidos. El segundo grupo cuenta con colecciones asiáticas de China y Corea, y el tercer grupo, presenta todas cepas tropicales donde se encuentran las 15 muestras ecuatorianas junto con muestras de Costa Rica, Guyana Francesa, Puerto Rico y Estados Unidos (Florida).

El octavo clado (C8) con un soporte del 100% contiene 2 colecciones ecuatorianas (G114 y G220) identificadas como *G. stipitatum*, una cubana de *G. weberianum* y una colombiana de *G. stipitatum*.

El noveno clado (C9) comprende a las colecciones ecuatorianas de *Ganoderma* sp. Posee un soporte del 80% y lo conforman 2 grupos: en el primer grupo se encuentra la muestra G201, identificada como *Ganoderma* sp9, y en el segundo grupo se encuentran las muestras G200, G96, G126, G97 y G199 identificadas como *Ganoderma* sp1, y G110 identificada como *Ganoderma* sp3.

En el décimo clado (C10) se encuentra el grupo externo conformado por la especie *T. colossus*. Este tiene un soporte del 100% y alberga a 2 colecciones, 1 brasileña y 1 taiwanesa.



## 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En el presente estudio se identificó a 54 muestras pertenecientes a la familia Ganodermataceae por secuencia de la región ITS del ADNr y su morfología, y otras 102 muestras fueron identificadas únicamente por morfología. Además, se encontraron cuatro especies de *Ganoderma* y dos de *Amauroderma* ya descritas, se identificaron 13 especies de *Ganoderma* y tres de *Amauroderma* que posiblemente sean nuevas para la ciencia, aunque estudios adicionales son necesarios para aseverar esto. Se demostró que las muestras ecuatorianas de *G. subfornicatum*, *G. parvulum*, *G. stipitatum*, *A. schomburgkii* y *A. praetervisum* se encuentran cercanamente relacionadas con otras cepas neotropicales de Brasil, mientras que las colecciones de *G. applanatum* se encuentran claramente diferenciadas de muestras de zonas templadas y cercanamente relacionadas con colecciones neotropicales.

Las especies *G. subfornicatum*, *G. parvulum* y *G. stipitatum*, según Ryvarden (2004), son neotropicales. Torres *et al.* (2012) y Gomes-Silva *et al.* (2011) presentan registros de *G. parvulum* y *G. stipitatum* en Brasil, Belice, Bolivia, Surinam, Nicaragua, Costa Rica, Perú y Venezuela; y de *G. subfornicatum* en Belice (Torres *et al.*, 2012). Sin embargo, en la base de datos GenBank solo existen registros de muestras de Brasil y Guyana Francesa, por lo que sería necesario obtener datos para otras regiones geográficas y de los países donde han sido reportadas, para poderlas comparar con las muestras del Ecuador.

Las muestras de *G. subfornicatum* ecuatorianas se encuentran cercanamente relacionadas con colecciones de *G. orbiforme* de Brasil y *G. subfornicatum* de Guyana

Francesa según el análisis filogenético. En cuanto a las características morfológicas, las muestras ecuatorianas de *G. subfornicatum* son similares entre sí y afines con las descritas por Wang *et al.* (2014), Torres *et al.* (2012), Gomes-Silva *et al.* (2011) y Ryvar den (2000) para la especie *G. orbiforme*, teniendo como diferencia el tamaño de la espora. Analizando la filogenia del presente estudio se puede observar que las colecciones ecuatorianas de *G. subfornicatum* forman un clado (C2) separado de las muestras brasileñas de *G. orbiforme*. Las características morfológicas son importantes para la determinación de una especie. Sin embargo como se mencionó anteriormente puede existir una plasticidad fenotípica dependiendo de las variaciones ambientales. Por tal motivo, se sugiere que las colecciones ecuatorianas corresponden a *G. subfornicatum*, pero no se descarta la posibilidad de que análisis de loci adicionales pudieran revelar que las muestras ecuatorianas son conespecíficas con *G. orbiforme* de Brasil. Wang *et al.* (2014) proponen que *G. orbiforme* es una especie con un amplio rango de variabilidad morfológica, según análisis de nrDNA y mtDNA ellos afirman que *G. cupreum*, *G. densizonatum*, *G. limushanense*, *G. mastoporum*, *G. orbiforme* y *G. subfornicatum* son conespecíficos; todos siendo sinónimos de *G. orbiforme*. Se sugiere analizar loci adicionales para poder confirmar la identidad de las colecciones ecuatorianas. No existen estudios de esta especie en otras regiones geográficas por lo que se necesitarían análisis del ADNr de muestras de otras regiones del mundo para poder comparar semejanzas y diferencias con las muestras obtenidas.

La muestra G202 identificada como *G. parvulum* del Ecuador, está cercanamente relacionada con las colecciones neotropicales URM2948 y URM80765 de Brasil. Morfológicamente Torres *et al.* (2012) y Ryvar den (2000, 2004) coinciden en que esta especie es sinónimo de *G. stipitatum*. La filogenia del presente estudio sugiere que *G. parvulum* y *G. stipitatum* son especies diferentes. Sin embargo se necesitaría un muestreo

más exhaustivo de esta especie y estudios adicionales para poder aseverar esto. La muestra G202 obtuvo un porcentaje de cobertura del 100% y una identidad del 98% con la especie *G. parvulum* de Brasil. Morfológicamente presenta varias diferencias con las descripciones hechas por Torres y Guzmán (2012) para *G. parvulum*. Posee un basidioma grande, mayor a  $1.7\text{--}5.5 \times 2.2\text{--}4 \times 0.7\text{--}1.3$  cm, con un contexto café, y no presenta depósitos de resina. Es posible que estas diferencias se deban a la naturaleza pleomórfica de algunas especies de *Ganoderma* (Ryvarden, 1994; Ryvarden, 2000) como respuesta a variaciones ambientales.

La especie *G. applanatum* es cosmopolita y está ampliamente distribuida, adaptada tanto a regiones tropicales como templadas; y ha sido reportada como patógena de coníferas, angiospermas y palmas (Paterson, 2007; Flood *et al.*, 2000). En el análisis filogenético se observa que las muestras analizadas de *G. applanatum* en este estudio son polifiléticas de acuerdo a su origen geográfico, confirmando lo dicho por Hong y Jung (2004). El clado formado solo por individuos de *G. applanatum* neotropicales se diferencia de otros *G. applanatum* de regiones templadas asiáticas, estadounidenses y europeas. Se sugiere que esta diferencia se debe principalmente a eventos de diversificación por procesos de dispersión de esporas a largas distancias (Moncalvo y Buchanan, 2008).

Antiguamente se creía que la diversificación de *G. applanatum*, al igual que muchos otros organismos, se dio con la separación de Gondwana de Laurasia hace 120 millones de años (Ladiges *et al.*, 1991; Moncalvo y Buchanan, 2008). Sin embargo, actualmente, gracias a análisis de la región 18S del ADNr, la hipótesis más aceptada es que la diversificación de *G. applanatum* se dio hace 30 millones de años (Moncalvo y Buchanan, 2008). En el hemisferio sur existe evidencia de que *G. applanatum* divergió por pequeños periodos de dispersión de esporas entre Nueva Zelanda, Sudáfrica y

Argentina, pero no existe evidencia de este suceso en el neotrópico. Actualmente, se sugiere que las cepas neotropicales de *G. applanatum* provienen de un proceso de radiación y diversificación en el Sud Este Asiático, seguido de pequeños periodos de colonización a larga distancia (Moncalvo y Buchanan, 2008), y se propone que las cepas neotropicales son diferentes de las cepas de regiones templadas. Esta teoría concuerda con los datos del presente estudio. La única excepción a esta agrupación es la cepa JMCR.128 de Costa Rica, la cual se encuentra junto con cepas del Reino Unido, Estados Unidos y Sudáfrica, y es una muestra que fue colectada a 2700m, por lo que se sugiere que cumpliría con patrones de distribución similar a las cepas de regiones templadas (Moncalvo y Buchanan, 2008).

Las características macromorfológicas de *G. applanatum* (Tabla 3) de las muestras ecuatorianas analizadas en este estudio coinciden con las descripciones realizadas por Torres y Guzmán (2012) y Kuo (2004) para la especie. El amplio patrón de distribución de *G. applanatum* en el Ecuador es similar que a nivel global, encontrándose en cinco de las seis regiones naturales donde se realizaron colectas (Tabla 2).

Las muestras ecuatorianas de *G. stipitatum* se encuentran cercanamente relacionadas con *G. weberianum* de Cuba y *G. stipitatum* de Colombia. Según Murril (1908) existe registro de *G. stipitatum* en Norte América, pero no existen registros de ADNr de esas colecciones para poder compararlas con las obtenidas en el presente estudio.

Las colecciones G114 y G220 fueron identificadas como *G. stipitatum* en base a análisis moleculares, y a la morfología según la descripción de Ryvarden (2000). Todas las muestras fueron colectadas en la misma localidad, Bilsa, que pertenece a la región natural

de Bosque Húmedo Tropical del Chocó (Figura 1). La filogenia nos muestra que esta especie es afín a *G. weberianum*. Según Torres *et al.* (2012) la característica morfológica más importante de *G. weberianum* es que su contexto cambia de blanco a amarillo al momento de realizar un corte, a diferencia de *G. stipitatum* que muestra bandas resinosas oscuras en su contexto.

Las muestras G114, G124 y G220 mantuvieron su contexto pálido después de realizar el corte y se observaron bandas resinosas oscuras justo por encima de los tubos que resaltaban con el contexto café pálido. Las esporas obtenidas de las muestras ecuatorianas son más pequeñas que las descritas por Torres *et al.* (2012) para *G. weberianum*, y coinciden con las descritas por Ryvarden (2000) para *G. stipitatum* (Tabla 3). Por lo que posiblemente hubo un error al momento de designar especie para la muestra *G. weberianum*.

Hubieron varias colecciones ecuatorianas identificadas como *Ganoderma* sp., según el análisis filogenético, que se encuentran distribuidas en los clados cuarto (C4), sexto (C6) y noveno (C9). No existen muestras a nivel regional ni mundial que se relacionen con estas muestras, por lo que posiblemente pudieran ser especies nuevas para la ciencia.

Las muestras del cuarto clado (G150 y G219) filogenéticamente son la misma especie. Además ambas muestras pertenecen a la misma región natural, BHTC, poseen características morfológicas similares entre sí y su forma de vida así como su sustrato de crecimiento fueron similares. Morfológicamente ambas muestras son afines a *G. applanatum*. Sin embargo debido a la problemática morfológica mencionada anteriormente, se concluye que estas muestras son un grupo taxonómico diferente identificadas como *Ganoderma* sp5.

El sexto clado (C6) de colecciones ecuatorianas de *Ganoderma* sp. cuenta con las muestras G198 (*Ganoderma* sp10) y ASL828 (*Ganoderma* sp11). La filogenia sugiere que ambas colecciones están cercanamente relacionadas y podrían ser la misma especie; sin embargo, según las características morfológicas, sustrato de crecimiento, forma de vida y región natural analizadas, estas colecciones no muestran coincidencia. Es posible que el análisis de loci adicionales ayude a esclarecer la identidad de estas muestras. Se sugiere investigar los loci de genes codificadores de proteína como por ejemplo: RPB1, RBP2 o TEF1-alpha ya que estos genes se ha comprobado que son útiles en la reconstrucción filogenética a varios niveles taxonómicos en Agaricomycetes y han ayudado en la clasificación taxonómica de *Trametes*, un género cercanamente relacionado a *Ganoderma*, ya que son genes conservados. Por lo que su análisis podría ayudar a dilucidar mejor los resultados obtenidos (Carlson *et al.*, 2014; Justo y Hibbet, 2011).

Las muestras incluidas en el noveno clado (C9) de colecciones ecuatorianas de *Ganoderma* sp. tienen la particularidad de que todas se encuentran creciendo como parásitos sobre raíces; a diferencia de la mayoría de *Ganodermas* colectados en este estudio que se los encontró creciendo como saprófitos. Ryvardeen (2004) menciona que *Ganoderma* puede ser parásito y que generalmente crece en troncos, pero también existen registros de *Ganodermas* que crecen sobre raíces (Bakshi *et al.*, 1975). No obstante, estas muestras no presentan una correlación con el área geográfica o las regiones naturales donde fueron encontradas (Figura 1). Las muestras G126 (sp1), G110 (sp3), G96 (sp1) y G97 (sp1) fueron colectadas en la ECY al lado oriental de la cordillera, que corresponde a un bosque húmedo tropical amazónico, mientras que G199 (sp1), G200 (sp1) y G201 (sp9) fueron colectadas en el bosque deciduo de Lalo Loor en la costa ecuatoriana. Las muestras G110 y G201 mostraron ser diferentes morfológicamente y según la filogenia al resto colecciones del clado (C9) (Figura 8 y 12) por lo que se las identificó como *Ganoderma*

sp3 y *Ganoderma* sp9 respectivamente. Las colecciones G96, G97, G126, G199 y G200 no muestran una correlación geográfica, esto puede deberse a procesos de dispersión de esporas a larga distancia, similares a procesos ocurridos en *G. applanatum* o *Peniophora* (Moncalvo y Buchanan, 2008; Hallenberg y Kúffer, 2001). Colecciones de *G. subfornicatum* del presente estudio fueron encontradas tanto al lado Oriental como Occidental de la Cordillera, por lo que se cree que a pesar de que las colecciones G96, G97, G126, G199 y G200 pertenecen a regiones geográficas diferentes, estas podrían pertenecer a la misma especie biológica. Sin embargo, el tipo de bosque al que pertenecen estas muestras es diferente por lo que se necesitarían estudios posteriores para determinar si el tipo de hábitat puede determinar la diferenciación de especies en *Ganoderma*. A pesar de que existen diferencias morfológicas entre ellas (Figura 11); filogenéticamente estas colecciones podrían pertenecer a la misma especie por lo que se concluye que las diferencias morfológicas se pueden deber a la naturaleza pleomórfica de *Ganoderma*.

En cuanto al género *Amauroderma*, las muestras de *A. praetervisum* y *A. schomburgkii* ecuatorianas se encuentran cercanamente relacionadas con colecciones de Brasil; mientras que las muestras identificadas como *Amauroderma* sp. forman un clado diferenciándose de *A. praetervisum* y *A. schomburgkii*. No existen registros a nivel regional ni mundial que se relacionen con las muestras de *Amauroderma* sp. ecuatorianas, por lo que posiblemente pudieran ser especies nuevas. Todas las secuencias disponibles de *Amauroderma* en GenBank provienen de regiones tropicales, lo cual concuerda con la distribución establecida para este género según Furtado (1981) y Ryvarden (2004). Las muestras ecuatorianas pertenecientes a este género fueron encontradas únicamente en las regiones naturales correspondientes al BHTC, BMO y BHTA (Figura 1). Lo cual concuerda con el tipo de bosque establecido por Carranza (1996) para *Amauroderma*.

Según la morfología las muestras ecuatorianas de *A. praetervisum* coinciden con las descripciones realizadas por Ryvar den (2004) y Henao (1997), mientras que las colecciones de *A. schomburgkii* coinciden con las descripciones realizadas por Santana y Leite (2013), Ryvar den (2004) y Henao (1997).

En el subclado donde se encuentran las muestras ecuatorianas de *Amauroderma* sp. se forman 2 grupos: en el primero se encuentran las muestras identificadas como *Amauroderma* sp2. y en el segundo las identificadas como *Amauroderma* sp3. Según caracteres morfológicos G75 (sp2) es similar a las colecciones del segundo grupo (sp3), pero la filogenia separa a estos dos. Como se mencionó anteriormente, el análisis de loci adicionales podría ayudar a dilucidar estos resultados. En base a análisis filogenético G131, CB217, G213, G149 y G148 corresponden a la misma especie *Amauroderma* sp3, a pesar de existir diferencias morfológicas (Figura 11) que pueden deberse a la plasticidad fenotípica de esta especie.

Para estudios posteriores se recomienda hacer uso tanto de herramientas morfológicas como moleculares, tomando en cuenta la problemática molecular y estableciendo criterios claros de identificación para evitar la subjetividad en los análisis morfológicos. Además se sugiere la realización de un árbol morfológico el cual se lo pueda comparar con la filogenia con el fin de dilucidar mejor los resultados obtenidos. Este tipo de árbol demanda una matriz completa para todas las muestras analizas; sin embargo, en el presente estudio existieron muestras que no poseían todas las características para este tipo de análisis, por lo que no pudo ser realizado.



Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian las semejanzas y diferencias genéticas y morfológicas de las muestras ecuatorianas de *Ganoderma* y *Amauroderma* con las descritas públicamente para muestras de otras partes del mundo. Como ya se mencionó, el conocimiento del reino Fungi en el Ecuador y a nivel global es escaso, por lo que es indispensable contar con más estudios de este reino. Los hongos de la familia Ganodermataceae se caracterizan por poseer biomoléculas con múltiples aplicaciones medicinales, las mismas que hasta el momento han sido solamente analizadas en cepas extranjeras, y se desconoce el potencial medicinal de los hongos de la familia Ganodermataceae en el Ecuador, por lo que su estudio merece mucha atención.

Moncalvo (1995a) estima que existen 250 especies de *Ganoderma* a nivel mundial. Según Ryvarden (2004) *Ganoderma* está representado en el neotrópico por 20 especies y *Amauroderma* por 21. Kirk *et al.* (2008) estiman que existen 30 especies de *Amauroderma* en el neotrópico. En el presente estudio se encontraron 17 especies de *Ganoderma* y 5 de *Amauroderma*, lo que constituye un inicio para determinar la diversidad de estos géneros en el Ecuador, además de aportar al conocimiento de la familia Ganodermataceae y del reino Fungi en el Ecuador, a nivel regional y global.

## 7. LITERATURA CITADA

- Adaskaveg, J. y Gilbertson, R. 1989. Cultural studies of four North American species in the *Ganoderma lucidum* complex with comparisons to *G. lucidum* and *G. tsugae*. Mycological Research 92 (2): 182-191
- Adaskaveg, J. y Gilbertson, R. 1986. Cultural studies and genetics of sexuality of *Ganoderma lucidum* and *G. tsugae* in relation to the taxonomy of *G. lucidum* complex. Mycologia 78: 694-705.
- Altschul, S., Gish, W., Miller, W., Myers, E. y Lipman, D. 1990. "Basic local alignment search tool." Journal of Molecular Biology 215: 403-410. [En línea]. <<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>>. [Consultado: 3 de Septiembre, 2014].
- Bakshi, B., Reddy, M. y Singh, S. 1975. *Ganoderma* root rot mortality in khair (*Acacia catechu* Willd.) in reforested stands. European Journal of Plant Patology 6: 30-38.
- Bass, M., Finer, M., Jenkins, C., Kreft, H., Cisneros-Heredia, D., *et al.* 2010. Global Conservation Significance of Ecuador's Yasuní National Park. PLoS.ONE 5(1): e8767. doi:10.1371/journal.pone.0008767.
- Boh, B., Hod`ar1, D., Dolni~ar1, D., Berovi, M. y Pohleven, F. 2000. Isolation and Quantification of Triterpenoid Acids from *Ganoderma applanatum* of Istrian Origin. Food Technology and Biotechnology 38 (1): 11-18.
- Blackwell, M. 2011. The Fungi: 1,2,3 ... 5.1 Million species? American Journal of Botany 98: 426-438.

- Blanchette, R. y Otjen, L. 1987. Assessment of 30 white rot basidiomycetes for selective lignin degradation. *Holzforschung* 41: 343-349.
- Carlson, A., Justo, A. y Hibbet, D. 2014. Species delimitation in *Trametes*: a comparison of ITS, RPB1, RPB2 and TEF1 gene phylogenies. *Mycologia* 106(4).
- Chen, A. 2004. Growing *Ganoderma* Mushrooms. En: *Mushroom Grower Handbook 1* (Mushworld) pp. 244-255, Seúl, Corea.
- Crous, P., Verkley, G., Groenewald, J. y Samson, R. 2009. *Fungal Biodiversity*. CBS-Knaw, Utrecht, Holanda.
- Crous, P., Gams, W., Stalpers, J., Robert, V y Stegehuis, G. 2004. MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century. *Studies in Mycology* 50: 19–22.
- Darriba D., Taboada, G., Doallo, R. y Posada, D. 2012. "jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing". *Nature Methods* 9 (8): 772.
- D'Souza, T., Merrit, C. y Adinarayana, C. 1999. Lignin-modifying enzymes of the white rot Basidiomycete *Ganoderma lucidum*. *Applied and Environmental Microbiology* 65 (12): 5307–5313.
- Flood J., Bridge P. y Holderness, M. 2000. *Ganoderma Diseases of Perennial Crops*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Furtado, J. 1981. *Taxonomy of Amauroderma* (Basidiomycetes, Polyporaceae). New York Botanical Garden 34: ISSN 0071-5794
- Furtado, J. 1962. Structure of spores of Ganodermataceae Donk. *Rickia* 1: 227-242.

- Gardes, M. y Bruns, T. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes- Application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118.
- Gomes-Silva, A., Ryvarde, L. y Baptista, T. 2011. New records of Ganodermataceae (Basidiomycota) from Brazil. *Nova Hedwigia* 92 (1-2): 83-94.
- Gottlieb, A., Saidman, B. y Wright, J. 1998. Isoenzymes of *Ganoderma* species from southern South America. *Mycological Research* 102: 414-426.
- Gottlieb, A. y Wright, J. 1999a. Taxonomy of *Ganoderma* from southern South America: subgenus *Ganoderma*. *Mycological Research* 103: 661-673.
- \_\_\_\_\_ 1999b. Taxonomy of *Ganoderma* from southern South America: subgenus *Elfvingia*. *Mycological Research* 103: 1289-1298.
- Gottlieb, A., Ferrer, E. y Wright, J. 2000. rDNA analyses as an aid to the taxonomy of species of *Ganoderma*. *Mycological Research* 104: 1033-1045.
- Hallenberg, N. and Kuffer, N. 2001. Long-distance spore dispersal in wood-inhabiting Basidiomycetes. *Nordic Journal of Botany* 21: 431-436.
- Hong, S. y Jung, H. 2004. Phylogenetic analysis of *Ganoderma* based on nearly complete mitochondrial small-subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 96: 742-755.
- INDEX FUNGORUM. Cabi Bioscience Databases – *Amauroderma*. 2013. [En línea]. <<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>>. [Consultado: 17 de Septiembre, 2013]

- INDEX FUNGORUM. Cabi Bioscience Databases – *Ganoderma*. 2013. [En línea].  
<<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>>. [Consultado: 17 de Septiembre, 2013]
- Jiao, C., Xie ,Y., Yang X., Li ,H., Li ,X., *et al.* 2013. Anticancer Activity of *Amauroderma rude*. PLoS ONE 8 (6): e66504.
- Justo, A. y Hibbet, D. 2011. Phylogenetic classification of *Trametes* (Basidiomycota, Polyporales) based on a five-marker dataset. Taxon 60 (6): 1567–1583.
- Kaliyaperumal, M. 2013. Molecular Taxonomy of *Ganoderma cupreum* from Southern India Inferred from ITS rDNA Sequences Analysis. Mycobiology 41 (4): 248-251.
- Karsten, P. 1881. Enumeratio Boletinearum et Polyporearum Fennicarum, systemate novo dispositarum. Revue de Mycologie 3 (9): 16-19.
- Kirk, P., Cannon P., Minter, D. y Stalpers, J. 2008. Dictionary of the Fungi (10th ed.). CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Koljalj, U., Nilsson, H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A., *et al.* 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. Molecular Ecology 22: 5271–5277.
- Kuo, M. 2004. *Ganoderma applanatum*. MushroomExpert.Com. [En línea].  
<[http://www.mushroomexpert.com/Ganoderma\\_applanatum.html](http://www.mushroomexpert.com/Ganoderma_applanatum.html)>. [Consultado: 24 de Junio, 2014]
- Læssøe, T., Petersen, J. 2008. Svampelivet på ækvator. SVAMPE 58.
- Ladiges, P., Humphries, C. y Martinelli, L. 1991. Austral biogeography. Australian Journal of Systematic Botany 4: 1–227.

- Lin, Z. y Zahng, H. 2004. Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. *Acta Pharmacologica Sinica* 11: 1387-1395.
- Lovy, A., Knowles, B., Labe, R. y Nolan, L. 2013. Activity of Edible Mushrooms Against the Growth of Human T4 Leukemic Cancer Cells, HeLa Cervical Cancer Cells, and *Plasmodium falciparum*. *Journal of Herbs, Spices y Medicinal Plants* 6 (4): 49-57.
- Martin, K. y Rygiewicz, P. 2005. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. *BMC Microbiology* 5: 28.
- Martínez, M., Acevedo, R., Franqui, E., Cubano, L. y Dharmawardhane, S. 2011. *Ganoderma lucidum* (Reishi) Inhibits Cancer Cell Growth and Expression of Key Molecules in Inflammatory Breast Cancer. *Nutrition and Cancer* 63(7): 1085–1094.
- Moncalvo, J. y Buchanan, P. 2008. Molecular evidence for long distance dispersal across the Southern Hemisphere in the *Ganoderma applanatum-australe* species complex (Basidiomycota). *Mycological Research* 112: 425-436.
- Moncalvo, J. 2000. Systematics of *Ganoderma*. En: *Ganoderma Diseases of Perennial Crops* (ed. Flood J., Bridge P., Holderness, M.) pp. 23-45. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Moncalvo, J., Wang, H. y Hseu, R. 1995a. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 87: 223-238.
- 
- \_\_\_\_\_ 1995b. Gene phylogeny of *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with taxonomic characters. *Mycological Research* 99: 1489-1499.

- Moncalvo, J. y Ryvardeen, L. 1997. A nomenclatural study of the Ganodermataceae Donk. *Sinopsis Fungorum* 11: 1-14.
- Moreno, H., Martínez, A. y Fujimoto, Y. 2011. Aislamiento e identificación de dos esteroides y un triterpenoide del cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum* cultivado en Colombia. *Revista de la Facultad de química Farmacéutica* 18: 1.
- Murrill, W. 1908. Polyporaceae, Part 2. *North American Flora* 9(2):73-131.
- Muthelo, V. 2009. Molecular characterization of *Ganoderma* species. Tesis de Masterado en Ciencias. Universidad de Pretoria. Pretoria, Sudáfrica.
- Paterson, R.R.M. 2007. *Ganoderma* disease of oil palm - A white rot perspective necessary for integrated control. *Crop Protection* 26: 1369-1376.
- Pilotti, C. 2005. Stem rots of oil palm caused by *Ganoderma boninense*: Pathogen biology and epidemiology. *Mycopathologia* 159: 129-137.
- Pilotti, C., Sanderson, F., Aitken, E. y Armstrong, W. 2004. Morphological variation and host range of two *Ganoderma* species from Papua New Guinea. *Mycopathologia* 158: 251-256.
- Pilotti, C., Sanderson, F. y Aitken, E. 2002. Sexuality and interactions of monokaryotic and dikaryotic mycelia of *Ganoderma boninense*. *Mycological Research* 106: 1315-1322.
- Ron, S. R., Guayasamin, J. M., Yanez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A. y Ortiz, D. A. 2014. AmphibiaWebEcuador. Version 2014.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. [En línea] <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador>> [Consultado: 4 de Septiembre, 2014]

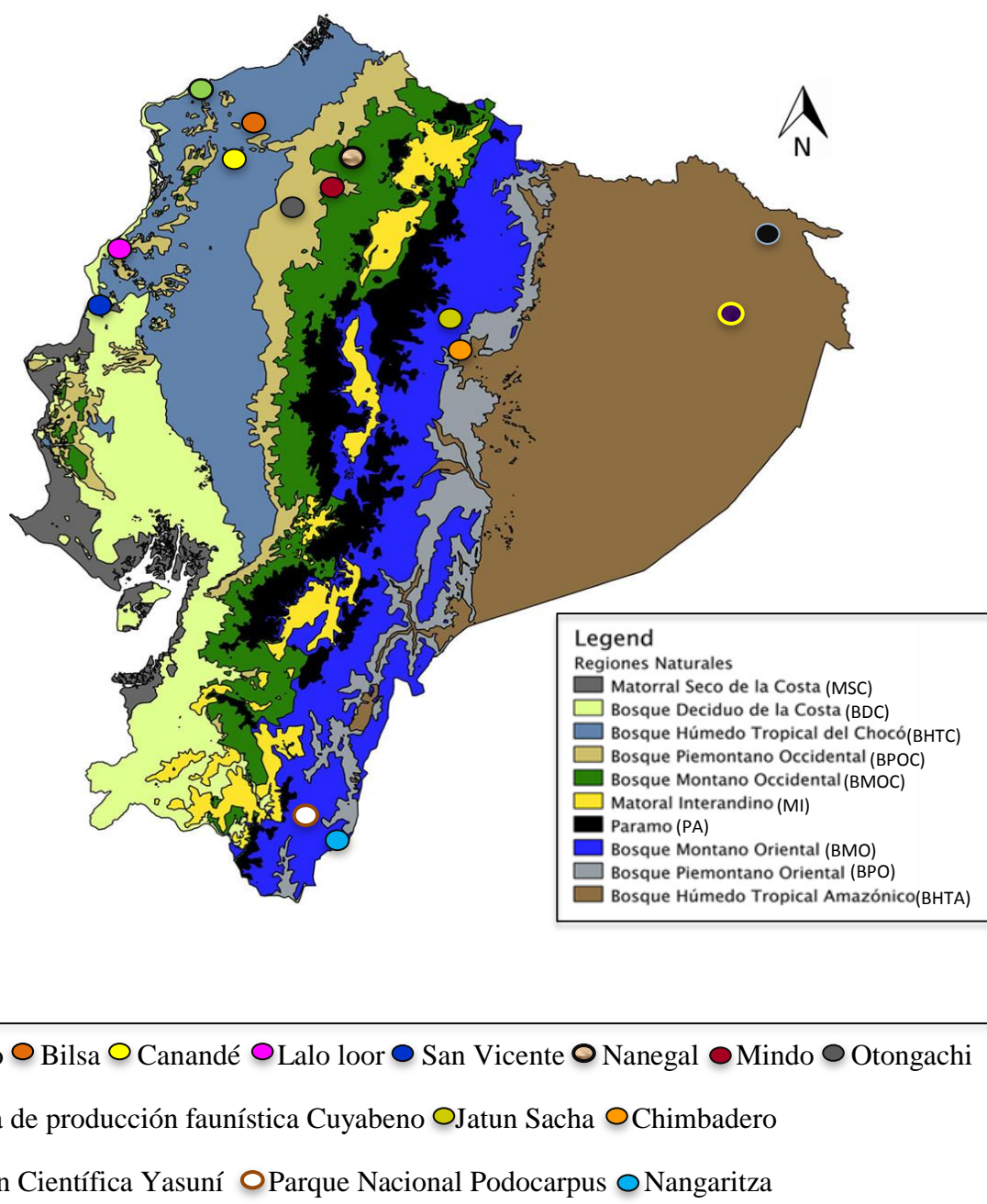
- Ryvarden, L. 2004. Neotropical Polypores. Part 1. Introduction, Hymenochaetaceae and Ganodermataceae. Fungiflora, Oslo, Noruega.
- Ryvarden, L. 2004. Studies in neotropical polypores 2: a preliminary key to neotropical species of *Ganoderma* with a laccate pileus. Mycologia 92: 180-191.
- Ryvarden, L. 1994. Can we trust morphology in *Ganoderma*? En: *Ganoderma: Systematics, Phytopathology and Pharmacology* (ed. Buchanan, P.K., Hseu, R.S., Moncalvo, J.M). Proceedings of Contributed Simposia 59.A.B. Fifth International Mycological Congress. pp. 19-24. Vancouver, Canadá.
- Santana, M. y Leite, C. 2013. Species of *Amauroderma* (Ganodermataceae) in Santa Catarina State, Southern Brazil. Biotemas 26 (1): 1-5.
- Seo, G. y Kirk, P. 2000. Ganodermataceae: Nomenclature and Classification. En: *Ganoderma Diseases of Perennial Crops* (ed. Flood J., Bridge P., Holderness, M.) pp. 3-22. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Smith, B. y Sivasithamparam, K. 2003. Morphological studies of *Ganoderma* (Ganodermataceae) from the Australian and Pacific regions. Australian Systematic Botany 16: 487-503.
- Smith, B. y Sivasithamparam, K. 2000a. Internal transcribed spacer ribosomal DNA sequence of five species of *Ganoderma* from Australia. Mycological research 104: 943-951.
- 
- 2000b. Isozymes of *Ganoderma* species from Australia. Mycological Research 104: 952-961.



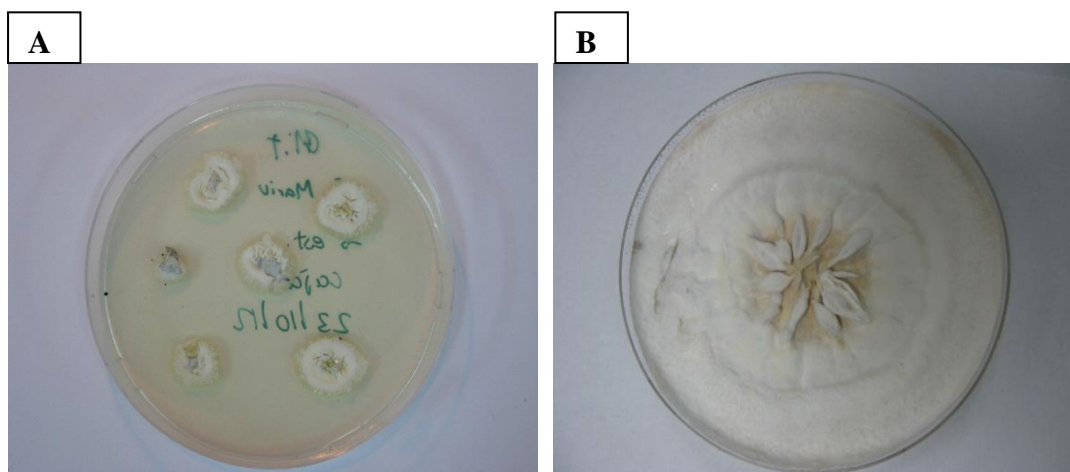
- Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Third Edition. Ten Speed Press Berkeley. Colorcraft Ltd, Hong Kong, China.
- Steyaert, R. 1975. The concept and circumscription of *Ganoderma tornatum*. Transaction of the British Mycological Society 65: 451-467.
- Steyaert, R. 1972. Species of *Ganoderma* and related genera mainly of the Bogor and Leiden herbaria. Persoonia 7: 55-118.
- Tang, W., Liu, J., Zhao, W., Wei, D. y Zhong, J. 2006. Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria mediated apoptosis in lung cancer cells. Life Sciences 80: 205–211.
- Thyagarajan, A., Jedinak, A., Nguyen, H., Terry, C., Baldrige, L., Jiang, J. y Sliva, D. 2010. Triterpenes From *Ganoderma lucidum* Induce Autophagy in Colon Cancer Through the Inhibition of p38 Mitogen-Activated Kinase (p38 MAPK). Nutrition and Cancer. 62 (5): 630-640.
- Torres, M. y Guzmán, L. 2012. The morphology of *Ganoderma* species with a laccate surface. Mycotaxon 119: 201-216.
- Torres, M., Guzmán, L. y Gugliotta, A. 2012. Ganoderma in Brazil: known species and new records. Mycotaxon 121: 93–132.
- Veena, S. y Meera, P. 2010. A simple method for culture conservation of some commercial mushrooms. Mycosphere 1(3): 191–194.
- Wang, D., Wu, S., Su, C, Peng, J. y Shih, Y. 2014. Clarification of the Concept of *Ganoderma orbiforme* with High Morphological Plasticity. PLoS ONE 9 (5): e98733.doi:10.1371/journal.pone.0098733.

- Wang, D., Wu, S., Su, C, Peng, J, Shih, Y. y Chen, L. 2009. *Ganoderma multipileum*, the correct name for '*G. lucidum*' in tropical Asia. *Botanical Studies* 50: 451-458.
- Wang, S., Hsu, M., Hsu, H., Tzeng, C., Lee, S., Shiao, M. y Ho, C. 1997. The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. *International Journal of Cancer* 70: 669-705.
- Wang, X., Xi, R., Li, Y., Wang, D. y Yao, Y. 2012. The Species Identity of the Widely Cultivated *Ganoderma*, '*G. lucidum*' (Ling-zhi), in China. *PLoS ONE* 7 (7): e40857. doi:10.1371/journal.pone.0040857.
- White, T., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for Phylogenetics. Part Three. *Genetics and Evolution* 38: 315-322.
- Worrall, J.J. 1991. Media for selective isolation of hymenomycetes. *Mycologia* 83:296-302
- Wu, T., Shi, L. y Kuo, S. 2001. Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* Triterpenes. *Journal of Natural Products* 64 (8):1121–1122.

## 8. FIGURAS



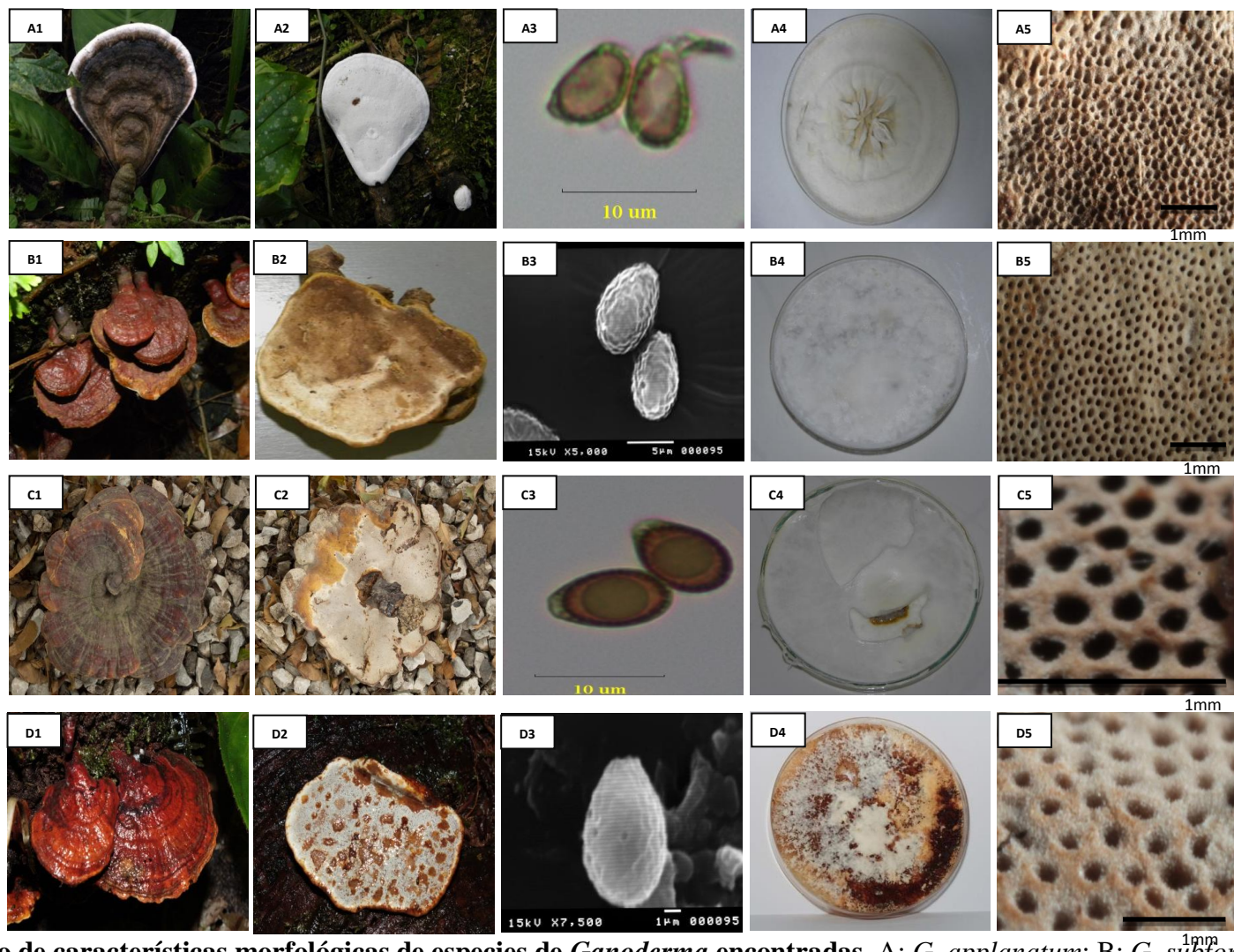
**Figura 1.** Mapa de distribución de las localidades y regiones naturales donde se recolectaron muestras de hongos de la familia Ganodermataceae en el Ecuador. (Mapa modificado de Ron *et al.*, 2014)



**Figura 2. Crecimiento micelial de cultivos puros de *Ganoderma*.** A: Crecimiento micelial típico de *Ganoderma* o *Amauroderma* en todos los inóculos. B: Crecimiento micelial típico de *Ganoderma* o *Amauroderma* 7-14 días después de reislado.

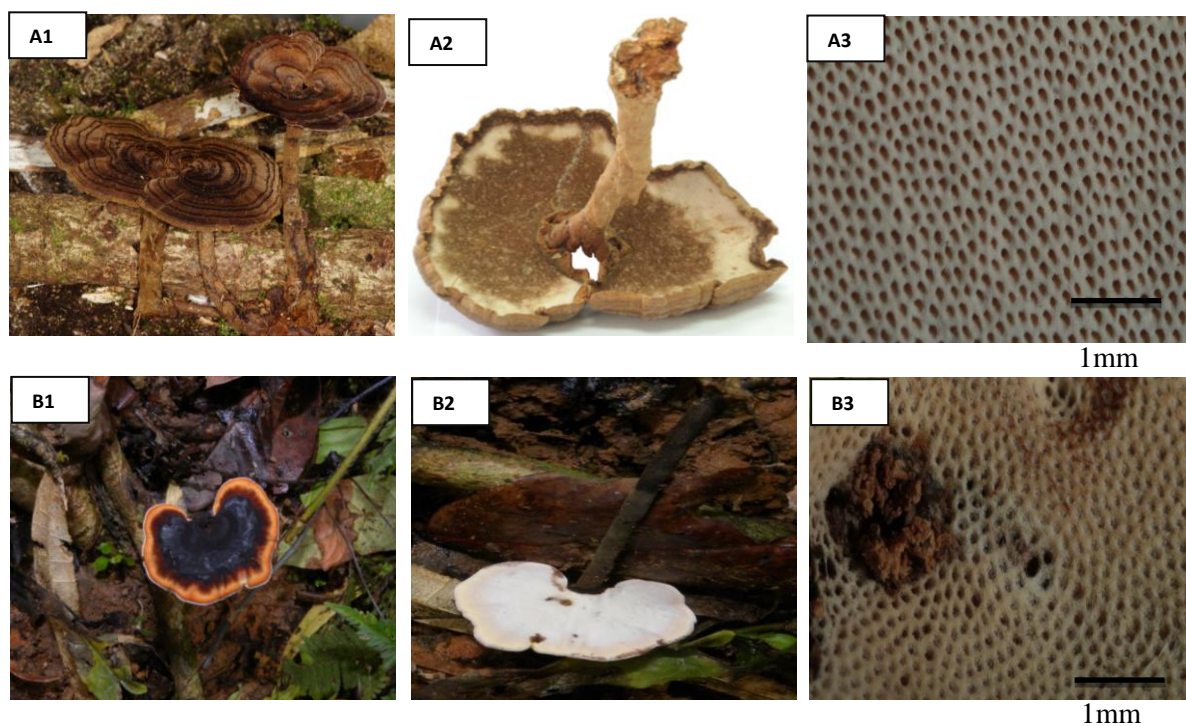


**Figura 3. Cultivos puros de *Ganoderma* o *Amauroderma* en granos de cebada.** A: Cebada sin inoculación. B: Cebada 15 días después de la inoculación.



**Figura 4.** Ejemplo de características morfológicas de especies de *Ganoderma* encontradas. A: *G. applanatum*; B: *G. subfornicatum*; C: *G. parvulum* ; D: *G. stipitatum*; 1: Superficie del basidiocarpio; 2: Himenio; 3: Basidiospores 4: Crecimiento micelial en PDA; 5: Detalle de los poros.





**Figura 5. Ejemplo de características morfológicas de especies de *Amauroderma* encontradas. A: *A. schomburgkii*; B: *A. praetervisum*. 1: Superficie del basidiocarpio; 2: Himenio; 3: Detalle de los poros.**



**Figura 6. Sustrato de crecimiento de *Ganoderma* y *Amauroderma*.** A: Tronco en descomposición con cuerpos fructíferos de *G. applanatum* y *G. subformicatum*. B: Tronco en descomposición con cuerpo fructífero de *G. subformicatum*. C: Tronco en descomposición con cuerpo fructífero de *G. applanatum*. D: Tronco en descomposición con cuerpo fructífero de *G. stipitatum* E: Raíces con cuerpo fructífero de *Amauroderma*.





**Figura 7. Muestras de *Ganoderma* que fueron identificadas hasta género colectadas en el presente estudio**





**Figura 8. Muestras de *Amauroderma* que fueron identificadas hasta género colectadas en el presente estudio**



**Figura 9.** Basidiocarpo de *Ganoderma applanatum* en esporulación colectado en la Estación Científica Yasuní

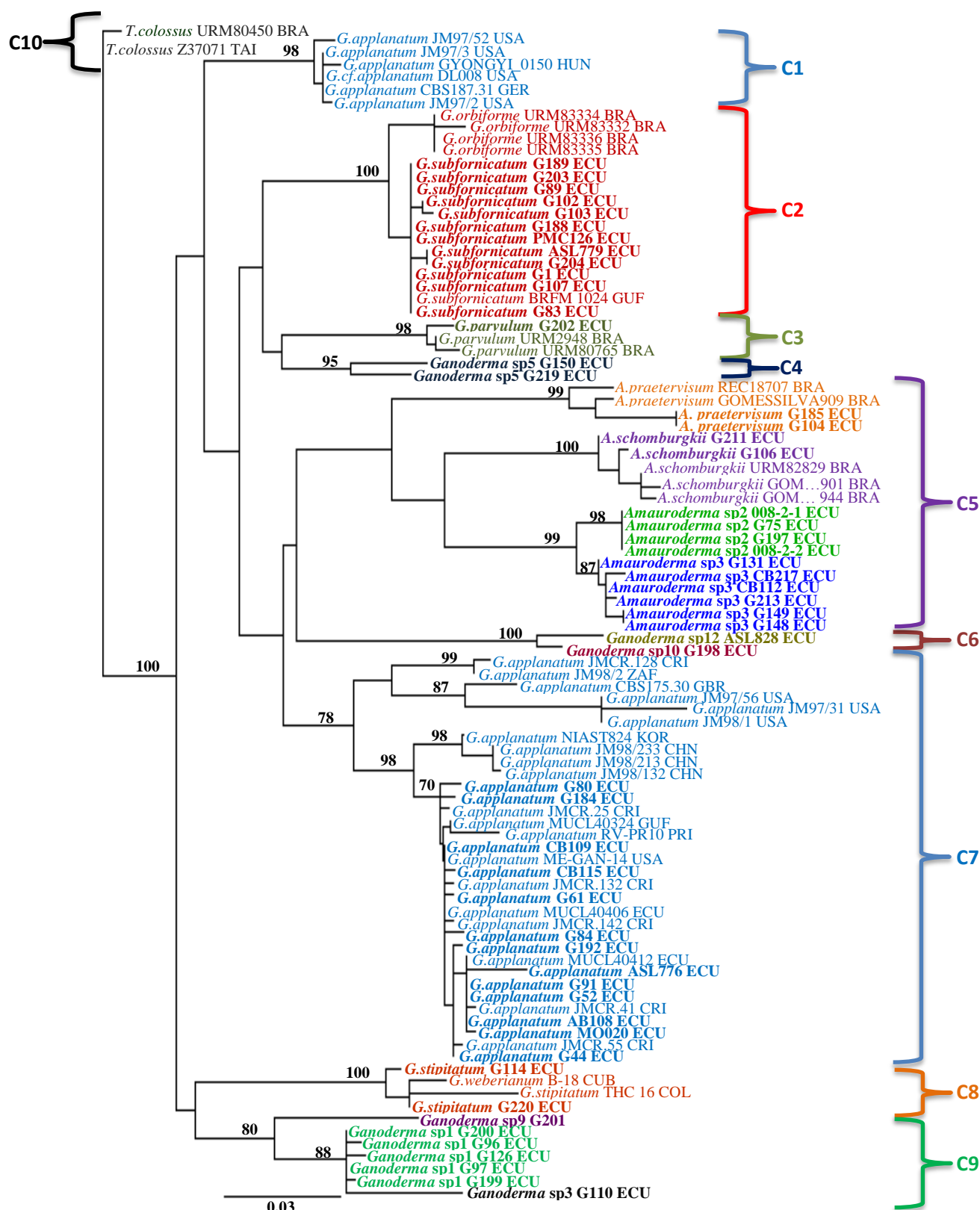


Figura 10. Árbol del análisis de máxima verosimilitud de las secuencias de la región ITS1- 5.8S- ITS2 del ADNr de muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma*. Los números sobre las ramas representan valores de bootstrap  $\geq 70\%$ . Las muestras ecuatorianas del presente estudio se ven en negrilla.





**Figura 11. Plasticidad morfológica de las muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* encontradas en el presente estudio. A: *Ganoderma*; B y C: *Amauroderma*. El segundo número después de *Ganoderma* spx- y *Amauroderma* spx- corresponde al número de individuo colectado.**

## 9. TABLAS

**Tabla 1. Cebadores utilizados para la amplificación de la región ITS del ADNr para la identificación de especies de *Ganoderma* y *Amauroderma***

Cebadores	Secuencia (5'-3')
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS1-F	5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3'
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
ITS4-B	5'-CAGGAGACT TGTACACGGTCCAG-3'

(White *et al.*, 1990; Gardes *et al.*, 1993)

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G1	Pichincha, Nanegal	12/01/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G21	Santo Domingo de los Tsachilas, Otongachi	03/03/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G38	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G42	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G43	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G44	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G46	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G48	Napo, Jatun Sacha	08/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G50	Orellana, Yasuní, ECY	07/04/2012	<i>Amauroderma</i> sp1	Morfología	Raíces
G51	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G52	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G53	Orellana, ECY	07/04/2012	Ganodermataceae sp.	Morfología	Tronco en descomposición
G54	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G55	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G56	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G57	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. aff. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G58	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G60	Esmeraldas,Caimito	14/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G61	Esmeraldas,Caimito	14/04/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G70	Esmeraldas,Caimito	14/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G71	Orellana, ECY	07/04/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G73	Zamora Chinchipe, Podocarpus	20/05/2012	<i>Amauroderma</i> sp1	Morfología	Raíces
G74	Zamora Chinchipe, Podocarpus	20/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G75	Zamora Chinchipe, Podocarpus	20/05/2012	<i>Amauroderma</i> sp2	ITS/Morfología	Raíces
G78	Orellana, ECY	25/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G79	Orellana, ECY	25/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G80	Orellana, ECY	25/05/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G81	Orellana, ECY	25/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G82	Orellana, ECY	25/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G83	Orellana, ECY	26/05/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G84	Orellana, ECY	26/05/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición



**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

<b>Número de Colección</b>	<b>Localidad<sup>a</sup></b>	<b>Fecha de colección</b>	<b>Especie</b>	<b>Método de Identificación</b>	<b>Sustrato</b>
G86	Orellana, ECY	26/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G87	Orellana, ECY	26/05/2012	<i>G. cf. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G89	Orellana, ECY	27/05/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G90	Orellana, ECY	27/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G91	Orellana, ECY	27/05/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G92	Orellana, ECY	27/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G93	Orellana, ECY	28/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G94	Orellana, ECY	28/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G95	Orellana, ECY	28/05/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G96	Orellana, ECY	28/05/2012	<i>Ganoderma</i> sp1	ITS/Morfología	Raíces
G97	Orellana, ECY	29/05/2012	<i>Ganoderma</i> sp1	ITS/Morfología	Raíces

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

<b>Número de Colección</b>	<b>Localidad<sup>a</sup></b>	<b>Fecha de colección</b>	<b>Especie</b>	<b>Método de Identificación</b>	<b>Sustrato</b>
G98	Orellana, ECY	29/05/2012	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G99	Orellana, ECY	29/05/2012	<i>Ganoderma</i> sp2	Morfología	Tronco en descomposición
G100	Orellana, ECY	30/05/2012	<i>Ganoderma</i> sp7	Morfología	Tronco en descomposición
G101	Orellana, ECY	30/05/2012	<i>A. schomburgkii</i>	Morfología	Raíces
G102	Orellana, ECY	30/05/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G103	Orellana, ECY	31/05/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G104	Orellana, ECY	01/06/2012	<i>A. praetervisum</i>	ITS/Morfología	Raíces
G106	Orellana, ECY	01/06/2012	<i>A. schomburgkii</i>	ITS/Morfología	Raíces
G107	Orellana, ECY	01/06/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G108	Orellana, ECY	02/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G109	Orellana, ECY	02/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

<b>Número de Colección</b>	<b>Localidad<sup>a</sup></b>	<b>Fecha de colección</b>	<b>Especie</b>	<b>Método de Identificación</b>	<b>Sustrato</b>
G110	Orellana, ECY	02/06/2012	<i>Ganoderma</i> sp3	ITS/Morfología	Raíces
G111	Orellana, ECY	02/06/2012	<i>Ganoderma</i> sp6	Morfología	Raíces
G112	Esmeraldas, Bilsa	18/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G113	Esmeraldas, Bilsa	18/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G114	Esmeraldas, Bilsa	18/06/2012	<i>G. stipitatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G115	Esmeraldas, Bilsa	18/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G116	Esmeraldas, Bilsa	18/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G117	Esmeraldas, Bilsa	19/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G118	Esmeraldas, Bilsa	19/06/2012	Ganodermataceae sp.	Morfología	Tronco en descomposición
G119	Esmeraldas, Bilsa	19/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G121	Esmeraldas, Bilsa	20/06/2012	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G122	Esmeraldas, Bilsa	20/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G124	Esmeraldas, Bilsa	21/06/2012	<i>G. stipitatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G125	Esmeraldas, Bilsa	22/06/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G126	Orellana, ECY	03/06/2012	<i>Ganoderma</i> sp1	ITS/Morfología	Raíces
G127	Esmeraldas, Canandé	05/07/2012	<i>G. cf. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G128	Esmeraldas, Canandé	05/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G129	Esmeraldas, Canandé	05/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G130	Esmeraldas, Canandé	05/07/2012	<i>Amauroderma</i> sp3	Morfología	Raíces
G131	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>Amauroderma</i> sp3	ITS/Morfología	Raíces
G133	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G134	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G135	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G136	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G141	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>Ganoderma</i> sp7	Morfología	Tronco en descomposición
G142	Esmeraldas, Canandé	06/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G144	Esmeraldas, Canandé	07/07/2012	<i>G. cf. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G146	Esmeraldas, Canandé	07/07/2012	<i>Amauroderma</i> sp1	Morfología	Raíces
G148	Esmeraldas, Canandé	07/07/2012	<i>Amauroderma</i> sp3	ITS/Morfología	Raíces
G149	Esmeraldas, Canandé	15/06/2011	<i>Amauroderma</i> sp3	ITS/Morfología	Raíces
G150	Esmeraldas, Canandé	08/07/2012	<i>Ganoderma</i> sp	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G151	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	cf. Ganodermataceae	Morfología	Raíces
G153	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	cf. Ganodermataceae	Morfología	Raíces

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G154	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	cf. Ganodermataceae	Morfología	Raíces
G155	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	<i>G. aff. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G156	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G158	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G159	Zamora Chinchipe, Nangaritza	20/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G160	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G162	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G163	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G164	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G166	Zamora Chinchipe, Nangaritza	21/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G167	Zamora Chinchipe, Nangaritza	22/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G169	Zamora Chinchipe, Nangaritzza	22/07/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G170	Zamora Chinchipe, Nangaritzza	22/07/2012	<i>G. cf. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G171	Zamora Chinchipe, Nangaritzza	22/07/2012	<i>G. cf. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G172	Zamora Chinchipe, Nangaritzza	23/07/2012	<i>Ganoderma</i> sp8	Morfología	Tronco en descomposición
G183	Esmeraldas, Caimito	25/08/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G184	Esmeraldas, Caimito	25/08/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G185	Napo, Chimbadero	02/09/2012	<i>A. praetervisum</i>	ITS/Morfología	Raíces
G186	Napo, Chimbadero	03/09/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G188	Napo, Chimbadero	04/09/2012	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G189	Napo, Chimbadero	05/09/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G190	Napo, Chimbadero	06/09/2012	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G191	Napo, Chimbadero	06/09/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G192	Napo, Chimbadero	07/09/2012	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G193	Napo, Chimbadero	08/09/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G194	Napo, Chimbadero	09/09/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G195	Napo, Chimbadero	09/09/2012	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G197	Orellana, ECY	15/06/2011	<i>Amauroderma</i> sp2	ITS/Morfología	-
G198	Manabí, Lalolor	16/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp10	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G199	Manabí, Lalolor	16/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp1	ITS/Morfología	Raíces
G200	Manabí, Lalolor	16/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp1	ITS/Morfología	Raíces
G201	Manabí, Lalolor	16/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp9	ITS/Morfología	Raíces
G202	Manabí, San Vicente	22/05/2013	<i>G. parvulum</i>	ITS/Morfología	-



**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G203	Orellana, ECY	06/06/2013	<i>G. subformicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G204	Orellana, ECY	06/06/2013	<i>G. subformicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G205	Orellana, ECY	06/06/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G206	Orellana, ECY	15/06/2013	<i>Amauroderma</i> sp1	Morfología	Raíces
G207	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	20/12/2011	<i>Ganoderma</i> sp13	Morfología	Raíces
G208	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	20/12/2011	<i>Ganoderma</i> sp11	Morfología	Tronco en descomposición
G209	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	20/12/2011	<i>Amauroderma</i> sp3	Morfología	Raíces
G210	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	20/12/2011	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G211	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	20/12/2011	<i>A. schomburgkii</i>	ITS/Morfología	Raíces
G212	Sucumbíos, Lagunas del Cuyabeno	2/12/2011	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G213	Orellana, ECY	16/07/2013	<i>Amauroderma</i> sp3	ITS/Morfología	-

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
G214	Orellana, ECY	13/05/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G215	Napo, Chimbadero	04/09/2012	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G216	Pichincha, Mindo	01/09/2013	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
G219	Esmeraldas, Bilsa	16/04/2014	<i>Ganoderma</i> sp	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G220	Esmeraldas, Bilsa	17/04/2014	<i>G. stipitatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
G221	Manabí, Lalolloor	16/03/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
CB217	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>Amauroderma</i> sp2	ITS/Morfología	-
CB-026	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
ASL-825	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
ASL828	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp12	ITS/Morfología	Raíces
ASL829	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>Ganoderma</i> sp5	Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio. Continuación...**

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
CB214	Orellana, ECY	09/03/2013	<i>A. schomburgkii</i>	ITS/Morfología	Raíces
PMC126	Orellana, ECY	09/03/2013	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
CB112	Orellana, ECY	10/03/2013	<i>Amauroderma</i> sp3	ITS/Morfología	Raíces
CB115	Orellana, ECY	10/03/2013	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
ASL776	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
ASL797	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. subfornicatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
ASL799	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. subfornicatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
ASL-783	Orellana, ECY	11/03/2013	cf. Ganodermataceae	Morfología	Raíces
ASL-830	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
CB109	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
AB108	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición

**Tabla 2. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* colectadas en el Ecuador obtenidas en el presente estudio.** Continuación

Número de Colección	Localidad <sup>a</sup>	Fecha de colección	Especie	Método de Identificación	Sustrato
CB-226	Orellana, ECY	11/03/2013	<i>G. applanatum</i>	Morfología	Tronco en descomposición
MO020	Orellana, ECY	08/03/2013	<i>G. applanatum</i>	ITS/Morfología	Tronco en descomposición
008-2-1	Orellana, ECY	10-15/06/2011	<i>Amauroderma</i> sp2	ITS/Morfología	-
008-2-2	Orellana, ECY	10-15/06/2011	<i>Amauroderma</i> sp2	ITS/Morfología	-

<sup>a</sup> Provincia, localidad.

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio. **Parte I**

Especie <sup>a</sup>	Apariencia pilear	Superficie Pilear	Forma del píteo	Grosor del píteo	Corteza pilear	Estípíte	Adherencia del estípíte
<i>G. applanatum</i>	No lacado, café o negro	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Grueso	Dura	Ausente o presente	Lateral
<i>G. subfornicatum</i>	Lacado, rojo-café con bandas amarillas y/o anaranjadas	Radial o concéntricamente sulcado	Reniforme convexo o cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>G. parvulum</i>	Lacado, rojo vino	Concéntricamente sulcado	Circular y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Central
<i>G. stipitatum</i>	Lacado, rojo; viejo morado	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>A. schomburgkii</i>	Opaco, café con bandas café oscuro	Sin sulcos o radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo o plano	Delgado	Suave	Presente	Lateral o central
<i>A. praetervisum</i>	Opaco, azul con bandas: roja y anaranjada	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral o central
<i>Ganoderma</i> sp1-1	Lacado, rojo-anaranjado con bandas amarillas	Concéntricamente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral

**Tabla 3. Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.**

**Parte I.** Continuación...

Especie <sup>a</sup>	Apariencia pilear	Superficie Pilear	Forma del píleo	Grosor del píleo	Corteza pilear	Estípites	Adherencia del estípites
<i>Ganoderma</i> sp1-2	Lacado, café con bandas: roja, anaranjada y amarilla	Radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral o central
<i>Ganoderma</i> sp1-3	Opaco, café con bandas café oscuro	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp1-4	Opaco, café-Rojo	Concéntricamente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp1-5	Lacado, rojo Vino	Radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral o central
<i>Ganoderma</i> sp2	Lacado, rojo Vino	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp3	Lacado, negro con bandas: vino y roja	Concéntricamente sulcado	Circular y cóncavo	Grueso	Suave	Presente	Central
<i>Ganoderma</i> sp4	Lacado, rojo-Vino	Radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp5	No lacado, café	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Grueso	Dura	Presente	Lateral

**Tabla 3 Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.**

**Parte I.** Continuación...

<b>Especie <sup>a</sup></b>	<b>Apariencia pilear</b>	<b>Superficie Pilear</b>	<b>Forma del píleo</b>	<b>Grosor del píleo</b>	<b>Corteza pilear</b>	<b>Estípite</b>	<b>Adherencia del estípite</b>
<i>Ganoderma</i> sp6	Lacado, rojo con bandas negras	Radialmente sulcado	Circular y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Central
<i>Ganoderma</i> sp7	No lacado, café con bandas negras y verdes	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Grueso	Dura	Ausente	-
<i>Ganoderma</i> sp8	No lacado, blanco, Primordio	-	-	Grueso	Dura	Ausente	-
<i>Ganoderma</i> sp9	Lacado, anaranjado con banda amarilla	Radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp10	Lacado, negro con bandas: roja, anaranjada y amarilla	Radialmente sulcado	Reniforme y plano	Delgado	Suave	Ausente	-
<i>Ganoderma</i> sp11	No lacado, negro	Concéntricamente sulcado	Reniforme y convexo	Grueso	Dura	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp12	Opaco, café	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Ganoderma</i> sp13	Opaco, Negro con banda anaranjada	Concéntricamente sulcado	Circular y convexo	Delgado	Suave	Presente	Central

**Tabla 3 Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.**

**Parte I.** Continuación...

Especie <sup>a</sup>	Apariencia pilear	Superficie Pilear	Forma del píleo	Grosor del píleo	Corteza pilear	Estípites	Adherencia del estípites
<i>Amauroderma</i> sp1-2	Opaco, café con bandas negras	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp1-1	Opaco, café	Radialmente sulcado	Reniforme	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp2	Opaco, café	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp1-3	Opaco, café con bandas café claro y	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp1-4	Opaco, café	Radialmente sulcado	Reniforme y convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp3-1	Opaco, café con banda anaranjada	Radialmente sulcado	Reniforme y plano	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp3-2	Lacado, café con banda amarilla	Radialmente sulcado	Reniforme y plano	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp3-3	Lacado, café con bandas: roja y anaranjada	Radialmente sulcado	Reniforme y cóncavo	Delgado	Suave	Presente	Lateral



**Tabla 3 Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.**

**Parte I. Continuación**

<b>Especie <sup>a</sup></b>	<b>Apariencia pilear</b>	<b>Superficie Pilear</b>	<b>Forma del píleo</b>	<b>Grosor del píleo</b>	<b>Corteza pilear</b>	<b>Estípite</b>	<b>Adherencia del estípite</b>
<i>Amauroderma</i> sp3-4	Opaco, blanco, Primordio	Radialmente sulcado	-	Delgado	Suave	Presente	Lateral
<i>Amauroderma</i> sp3-5	Lacado, con bandas: anaranja y rosada	Radialmente sulcado	Reniforme y Convexo	Delgado	Suave	Presente	Lateral

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio. **Parte II**

Especie <sup>a</sup>	Color contexto	Depósito de resina	Color himenio	Poros por mm	Color esporada	Forma esporas	Tamaño esporas $\mu\text{m}$	Sustrato <sup>b</sup>	Región natural <sup>c</sup>
<i>G. applanatum</i>	Café-negro	No	Blanco	6-7	Café	Elipsoides truncadas en el ápice	5-7 x 3-4	TD	CTA BMO BHTA BHTC BMOC
<i>G. subforficatum</i>	Café	Sí	Blanco	5-6	Café	Elipsoides truncadas en el ápice	7-9 x 4-6	TD	BMO BHTA BHTC BMOC
<i>G. parvulum</i>	Café	No	Blanco-amarillento	5-6	-	Elipsoides truncadas en el ápice, con pilares libres	9 x 6	-	BDC
<i>G. stipitatum</i>	Blanco-café	Sí	Blanco-amarillento	4-5	Café	Elipsoides truncadas en el ápice	7 x 4-5	TD	BHTC
<i>A. schomburgkii</i>	Blanco-amarillento	No	Blanco-café	5-7	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>A. praetervisum</i>	Blanco	No	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp1-1	Blanco	No	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BDC

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.

**Parte II.** Continuación...

Especie <sup>a</sup>	Color contexto	Depósito de resina	Color himenio	Poros por mm	Color esporada	Forma esporas	Tamaño esporas $\mu\text{m}$	Sustrato <sup>b</sup>	Región natural <sup>c</sup>
<i>Ganoderma</i> sp1-2	Blanco	-	Blanco	6-7	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp1-3	Blanco	No	Blanco-amarillento	6-7	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp1-4	Blanco	No	Blanco	6-7	-	-	-	Raíces	BDC
<i>Ganoderma</i> sp1-5	Blanco	-	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp2	Café	No	Blanco	6	-	-	-	TD	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp3	Blanco	No	Blanco	6	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp4	Blanco	-	Blanco-Café	-	-	-	-	TD	BHTA

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.

**Parte II.** Continuación...

<b>Especie<sup>a</sup></b>	<b>Color contexto</b>	<b>Depósito de resina</b>	<b>Color himenio</b>	<b>Poros por mm</b>	<b>Color esporada</b>	<b>Forma esporas</b>	<b>Tamaño esporas <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Sustrato<sup>b</sup></b>	<b>Región natural<sup>c</sup></b>
<i>Ganoderma</i> sp5	Café-negro	No	Blanco	6-7	Café	Elipsoides truncadas en el ápice	8-9 x 3-5	TD	BHTC
<i>Ganoderma</i> sp6	Blanco	Sí	Blanco- amarillento	5	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp7	Blanco	No	Blanco	5	-	-	-	TD	BHTA, BHTC
<i>Ganoderma</i> sp8	-	-	Blanco	-	-	-	-	TD	BMO
<i>Ganoderma</i> sp9	Blanco	No	Blanco	7	-	-	-	Raíces	BDC
<i>Ganoderma</i> sp10	Blanco	Sí	Blanco	4-5	-	-	-	TD	BDC
<i>Ganoderma</i> sp11	Negro	No	Blanco	6	-	-	-	TD	BHTA

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.

**Parte II.** Continuación...

<b>Especie<sup>a</sup></b>	<b>Color contexto</b>	<b>Depósito de resina</b>	<b>Color himenio</b>	<b>Poros por mm</b>	<b>Color esporada</b>	<b>Forma esporas</b>	<b>Tamaño esporas <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Sustrato<sup>b</sup></b>	<b>Región natural<sup>c</sup></b>
<i>Ganoderma</i> sp12	Blanco-amarillento	-	-	-	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Ganoderma</i> sp13	Blanco	Sí	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp1-1	Blanco-amarillento	-	-	6-7	-	-	-	Raíces	BMO
<i>Amauroderma</i> sp1-2	Blanco	-	Blanco-amarillento	7-8	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp2	-	No	-	6-7	-	-	-	Raíces	BMO
<i>Amauroderma</i> sp1-3	Blanco	No	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp1-4	-	No	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTC

**Tabla 3.** Características morfológicas de las especies de *Ganoderma* y *Amauroderma* obtenidas en el presente estudio.

**Parte II.** Continuación

<b>Especie<sup>a</sup></b>	<b>Color contexto</b>	<b>Depósito de resina</b>	<b>Color himenio</b>	<b>Poros por mm</b>	<b>Color esporada</b>	<b>Forma esporas</b>	<b>Tamaño esporas <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Sustrato<sup>b</sup></b>	<b>Región natural<sup>c</sup></b>
<i>Amauroderma</i> sp3-1	Blanco	No	Blanco-amarillento	4-5	-	-	-	-	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp3-2	Blanco	No	Blanco	4-5	-	-	-	Raíces	BHTC
<i>Amauroderma</i> sp3-3	Blanco	No	Blanco	-	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp3-4	Blanco	-	Blanco	-	-	-	-	Raíces	BHTA
<i>Amauroderma</i> sp3-5	Blanco	No	Blanco	5-6	-	-	-	Raíces	BHTC

<sup>a</sup> El segundo número después de *Ganoderma* spx- y *Amaruoderma* spx- corresponde al número de individuo colectado.

<sup>b</sup> TD = tronco en descomposición.

<sup>c</sup> BMO: Bosque Montano Oriental. BHTA: Bosque Húmedo Tropical Amazónico. BHTC: Bosque Húmedo Tropical del Chocó. BDC: Bosque Deciduo de la Costa. BMOC: Bosque Montano Occidental. CTA: Cosmopolita

**Tabla 4. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* identificadas en base a secuencias del ITS y Morfología**

Número de Colección	Especie	% de cobertura	Máxima Identidad <sup>a</sup>	Especie GenBank	Especie Morfología	Extracción Cuerpo/ Micelio
008-2-1	<i>Amauroderma</i> sp2	100%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Micelio
008-2-2	<i>Amauroderma</i> sp2	100%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Micelio
AB108	<i>G. applanatum</i>	100%	100%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
ASL776	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
ASL799	<i>G. subfornicatum</i>	100%	98%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
ASL828	<i>Ganoderma</i> sp12	98%	86%	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
CB109	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
CB112	<i>Amauroderma</i> sp3	99%	96%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Micelio
CB115	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
CB214	<i>A. schomburgkii</i>	100%	99%	<i>A. schomburgkii</i>	<i>A. schomburgkii</i>	Micelio
CB217	<i>Amauroderma</i> sp.	99%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Micelio
G1	<i>G. subfornicatum</i>	100%	99%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G102	<i>G. subfornicatum</i>	100%	97%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G103	<i>G. subfornicatum</i>	100%	100%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G104	<i>A. praetervisum</i>	100%	99%	<i>A. praetervisum</i>	<i>A. praetervisum</i>	Cuerpo
G106	<i>A. schomburgkii</i>	100%	99%	<i>A. schomburgkii</i>	<i>A. schomburgkii</i>	Micelio
G107	<i>G. subfornicatum</i>	100%	100%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G110	<i>Ganoderma</i> sp3	95%	94%	<i>G. tsugae</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G114	<i>G. stipitatum</i>	100%	98%	<i>G. sichuanense</i>	<i>G. stipitatum</i>	Cuerpo

**Tabla 3. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* identificadas en base a secuencias del ITS y Morfología. Continuación...**

Número de Colección	Especie	% de cobertura	Máxima Identidad <sup>a</sup>	Especie GenBank	Especie Morfología	Extracción Cuerpo/ Micelio
G126	<i>Ganoderma</i> sp1	100%	94%	<i>G. ramosissimum</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Cuerpo
G131	<i>Amauroderma</i> sp3	100%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Cuerpo
G148	<i>Amauroderma</i> sp3	99%	96%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Cuerpo
G149	<i>Amauroderma</i> sp3	100%	93%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Cuerpo
G150	<i>Ganoderma</i> sp5	100%	94%	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Ganoderma</i> cf. <i>applanatum</i>	Micelio
G184	<i>G. applanatum</i>	100%	98%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G185	<i>A. praetervisum</i>	99%	99%	<i>A. praetervisum</i>	<i>G. applanatum</i>	Cuerpo
G188	<i>G. subfornicatum</i>	100%	99%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G189	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G192	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G197	<i>Amauroderma</i> sp.	97%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Micelio
G198	<i>Ganoderma</i> sp10	100%	94%	<i>G. ramosissimum</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G199	<i>Ganoderma</i> sp1	100%	94%	<i>G. tsugae</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G200	<i>Ganoderma</i> sp1	100%	95%	<i>G. sichuanense</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G201	<i>Ganoderma</i> sp9	99%	93%	<i>G. tsugae</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G202	<i>G. parvulum</i>	100%	98%	<i>G. parvulum</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Micelio
G203	<i>G. subfornicatum</i>	100%	99%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G204	<i>G. subfornicatum</i>	100%	98%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G211	<i>A. schomburgkii</i>	100%	99%	<i>A. schomburgkii</i>	<i>A. schomburgkii</i>	Cuerpo
G213	<i>Amauroderma</i> sp3	100%	96%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Cuerpo
G219	<i>Ganoderma</i> sp5	100%	96%	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Ganoderma</i> cf. <i>applanatum</i>	Micelio



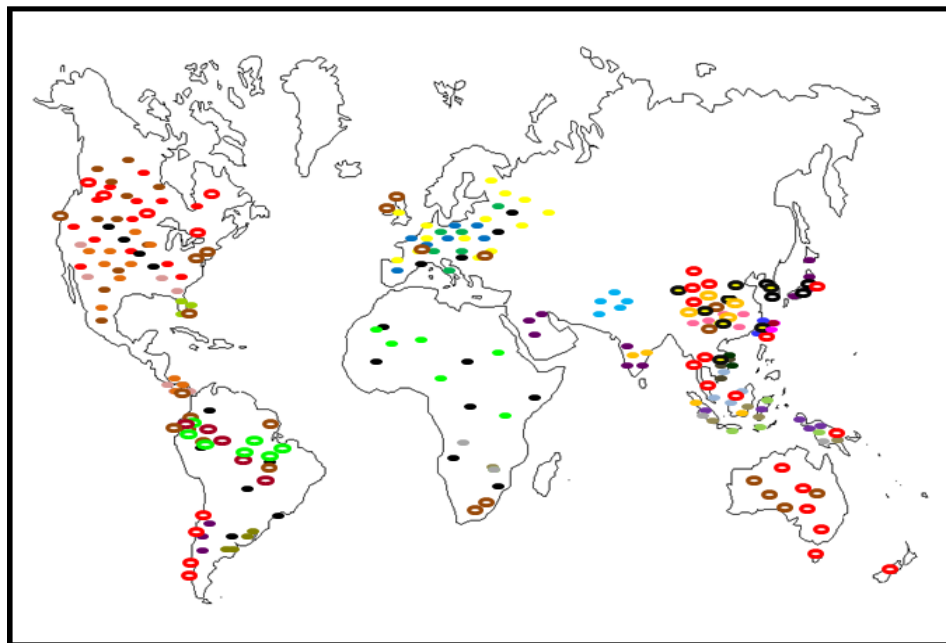
**Tabla 4. Muestras de *Ganoderma* y *Amauroderma* identificadas en base a secuencias del ITS y Morfología. Continuación**

Número de Colección	Especie	% de cobertura	Máxima Identidad <sup>a</sup>	Especie GenBank	Especie Morfología	Extracción Cuerpo/ Micelio
G220	<i>G. stipitatum</i>	100%	99%	<i>G. stipitatum</i>	<i>G. stipitatum</i>	Micelio
G44	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G52	<i>G. applanatum</i>	100%	100%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G61	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G75	<i>Amauroderma</i> sp2	94%	95%	<i>Amauroderma</i> sp.	<i>Amauroderma</i> sp.	Cuerpo
G80	<i>G. applanatum</i>	100%	98%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G83	<i>G. subfornicatum</i>	100%	100%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G84	<i>G. applanatum</i>	100%	97%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G89	<i>G. subfornicatum</i>	100%	99%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio
G91	<i>G. applanatum</i>	100%	100%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
G96	<i>Ganoderma</i> sp1	100%	96%	<i>G. sichuanense</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Cuerpo
G97	<i>Ganoderma</i> sp1	100%	94%	<i>G. ramosissimum</i>	<i>Ganoderma</i> sp.	Cuerpo
MO020	<i>G. applanatum</i>	100%	99%	<i>G. applanatum</i>	<i>G. applanatum</i>	Micelio
PMC126	<i>G. subfornicatum</i>	100%	99%	<i>G. orbiforme</i>	<i>G. aff. orbiforme</i>	Micelio

<sup>a</sup> Porcentajes con el acierto más cercano en GenBank

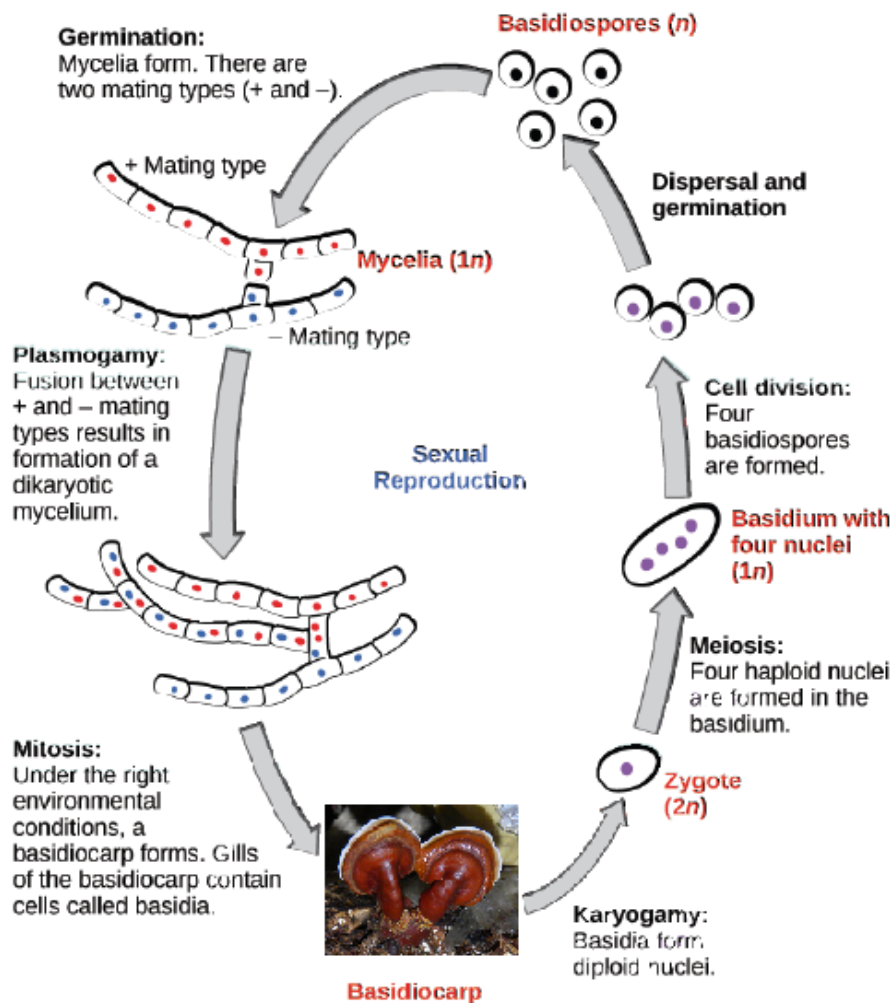
## 10. ANEXOS

**Anexo 1: Distribución de *Ganoderma* a nivel mundial.** Basada en Moncalvo (2000); Moncalvo y Buchanan (2008); (Hong y Jung, 2004); y este estudio.



- Ganoderma lucidum*   ● *Ganoderma carnosum*   ● *Ganoderma valesiacum*   ●  
*Ganoderma tsugae*   ● *Ganoderma oregonense*   ● *Ganoderma ahmadii*   ●  
*Ganoderma resinaceum*   ● *Ganoderma weberianum*   ● *Ganoderma microsporium*   ●  
*Ganoderma cf. capense*   ● *Ganoderma lauterbachii*   ● *Ganoderma rivolosum*   ●  
*Ganoderma trengganuense*   ● *Ganoderma curtisii*   ● *Ganoderma meredithae*   ●  
*Ganoderma tropicum*   ● *Ganoderma fornicatum*   ● *Ganoderma orstedii*   ●  
*Ganoderma septatum*   ● *Ganoderma zonatum*   ● *Ganoderma boniense*   ●  
*Ganoderma tomatum*   ● *Ganoderma balabascence*   ● *Ganoderma sinensis*   ●  
*Ganoderma formosanum*   ● *Ganoderma neojaponicum*   ● *Ganoderma applanatum*   ●  
*Ganoderma australe*   ● *Ganoderma parvulum*   ● *G. subfornicatum*   ●  
*Ganoderma multipileum*   ● *Ganoderma lucidum* mal identificados   ●

## Anexo 2: Ciclo de vida de *Ganoderma* spp.



<https://www.boundless.com/microbiology/textbooks/boundless-microbiology-textbook/microbial-evolution-phylogeny-and-diversity-8/fungi-113/basidiomycetes-594-11814/>

### **Anexo 3: Preparación de Medios de Cultivo para *Ganoderma* y *Amauroderma***

#### Agar dextrosa de papa (PDA):

- Diluir 39g de PDA en 1 litro de agua.
- Calentar en microondas hasta que hierva.
- Colocar 2 gramos de Levadura.
- Mezclar bien, tomando en cuenta que no queden grumos.
- Esterilizar por 15 min a 121 °C.
- Dejar enfriar a 50 °C y colocar 1g de estreptomicina y 0.1g de Benomil al 50%.
- Agitar bien hasta que no queden grumos y dispensar en cajas petri estériles.

#### Agar extracto de Malta:

- Diluir 36g de Agar extracto de Malta en 1 litro de agua.
- Colocar 2 gramos de Levadura.
- Calentar en microondas hasta que hierva.
- Mezclar bien, tomando en cuenta que no queden grumos.
- Esterilizar por 15 min a 121 °C.
- Dejar enfriar a 50 °C y colocar 1g de estreptomicina y 0.1g de Benomil al 50%.
- Agitar bien hasta que no queden grumos y dispensar en cajas petri estériles.

#### Agar Carboximetil Celulosa (CMC):

- Preparar los siguientes reactivos: CMC 1% (p/v), sulfato de amonio 0,5 g/L, cloruro de calcio 0,5 g/L, fosfato monobásico de potasio (0,1 g/L), fosfato dibásico de potasio (0,1 g/L), agar agar (15 gr/L)
- Disolver los reactivos y agar agar en 500ml.
- Disolver el CMC en 500ml, separado de los reactivos.
- Mezclar y dejar reposar para que se hidrate.
- Calentar en microondas hasta que hierva.
- Esterilizar por 15 min a 121 °C.
- Dejar enfriar a 50 °C y colocar 1g de estreptomicina y 0.1g de Benomil al 50%.
- Agitar bien hasta que no queden grumos y dispensar en cajas petri estériles.

#### Caldo Sabouraud

- Diluir 30g de Caldo Sabouraud en 1 litro de agua.
- Calentar en microondas hasta que hierva.
- Mezclar bien, tomando en cuenta que no queden grumos.
- Esterilizar por 15 min a 121 °C.
- Dispensar en cajas petri estériles.

#### **Anexo 4: Protocolo de extracción de ADN con Tiocinato de Guanidina**

Mantener alícuotas de Isopropanol al 100% en la congeladora a -20 °C

##### **Lisis de células y desnaturalización de la RNAsa**

1. Calentar el Buffer de Lisis a 55 °C para que el SDS vuelva a estar en solución (poner en la estufa o usar el microondas por pocos segundos).
2. Hacer alícuotas de 300 µl en tubos de 1,5 ml (de acuerdo al número de muestras a procesar).
3. Obtener el micelio que se encuentra creciendo sobre el agar y transferirlo al tubo con Buffer de Lisis.
4. Si no se obtuvo cultivo puro, obtener un pedazo pequeño de hifas del interior del cuerpo fructífero, transferirlo al tubo con Buffer de Lisis y macerarlo lo mejor posible con la ayuda de arena de cuarzo y un pistilo.
5. Añadir 3 µl (2-5 µl) de Proteinasa K (20 mg/ml) al tejido y dar un breve vortex.
6. Incubar la muestra a 55 °C de 3-6 horas o hasta que el tejido este completamente macerado, agitando las muestras cada 30-60 minutos. Si el tejido no se ha macerado luego de las 6 horas, dejarlo durante la noche en incubación añadiendo previamente 2 µl más de Proteinasa K.
7. Luego de la incubación, homogenizar la muestra con un breve vortex.
8. Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente.

##### **Precipitación de proteínas**

1. Añadir 100 µl de Solución de Precipitación a la muestra de tejido macerado, y dar vortex por 10-20 segundos.
2. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos. Repetir si es que no se ha formado un pelet firme.
3. Decantar el sobrenadante a un tubo nuevo de 1,5ml (contiene ADN), descartar el tubo con el pelet que contiene proteínas y demás desechos.

### **Precipitación de ADN**

1. Añadir 300 µl de 100% Isopropanol frío a la solución con ADN, mezclar cuidadosamente el contenido invirtiendo el tubo varias veces.
2. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos.
3. Descartar el sobrenadante, teniendo cuidado de no perder el pelet de ADN.
4. Añadir 300 µl de 70% etanol e invertir el tubo varias veces para lavar el pelet.
5. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos y descartar el etanol.
6. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente dejando el tubo abierto (~20-30 min). Si el pelet se deshidrata demasiado será más difícil re-hidratarlo.

### **Tratamiento con NaOAc, rehidratación, y almacenamiento del ADN**

1. Añadir de 100 µl de 10mM Tri-HCl, pH 8,0 al pelet y mezclar, debe resuspenderse completamente (12 horas), guardar a 4 °C.
2. Al siguiente día añadir 10 µl de 3 M NaOAc, invertir el tubo varias veces, añadir 100 µl de isopropanol frío, invertir el tubo varias veces.
3. Centrifugar a 13000 rpm por 10 minutos y descartar el sobrenadante.
4. Añadir 300 µl de 70% etanol e invertir el tubo varias veces para lavar el pelet.
5. Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos y descartar el etanol.
6. Dejar evaporar el remanente de etanol a temperatura ambiente dejando el tubo abierto (~20-30 min). Si el pelet se deshidrata demasiado será más difícil re-hidratarlo.
7. Resuspender el pelet añadiendo 50 µl de 0.1 TE pH8.0.
8. Guardar este stock a -20 °C. Alícuotas de mayor dilución en dH<sub>2</sub>O se pueden guardar a 4 °C.

**Anexo 5. Especie, código e identificación de secuencias publicadas en GenBank que fueron incluidas en el análisis filogenético**

<b>Especie</b>	<b>Nombre</b>	<b>Número Genbank</b>	<b>País <sup>a</sup></b>
<i>Ganoderma applanatum</i>	CBS175.30	AF255101	GBR
<i>Ganoderma applanatum</i>	CBS187.31	AF255093	GER
<i>Ganoderma applanatum</i>	GYONGYI_0150	AF255092	HUN
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM97/2	AF255095	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM97/3	AF255094	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM97/31	AF255098	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM97/52	AF255097	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM97/56	AF255099	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM98/1	AF255100	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM98/2	AF255149	ZAF
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM98/132	AF255115	CHN
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM98/213	AF255117	CHN
<i>Ganoderma applanatum</i>	JM98/233	AF255116	CHN
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.25	AF255134	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.41	AF255135	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.55	AF255136	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.128	AF255148	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.142	AF255137	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	JMCR.132	AF255138	CRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	ME-GAN-14	AF255130	USA
<i>Ganoderma applanatum</i>	MUCL40324	AF255141	GUF
<i>Ganoderma applanatum</i>	MUCL40406	AF255139	ECU
<i>Ganoderma applanatum</i>	MUCL40412	AF255140	ECU
<i>Ganoderma applanatum</i>	NIAS7824	AF255114	KOR
<i>Ganoderma applanatum</i>	RV-PR10	AF255133	PRI
<i>Ganoderma applanatum</i>	DL008	AF255096	USA
<i>Amauroderma praetervisum</i>	GOMESSILVA909	JX310856	BRA
<i>Amauroderma praetervisum</i>	REC18707	JX310855	BRA
<i>Amauroderma schomburgkii</i>	GOMESSILVA901	JX310859	BRA
<i>Amauroderma schomburgkii</i>	GOMESSILVA944	JX310858	BRA
<i>Amauroderma schomburgkii</i>	URM82829	JX310857	BRA
<i>Ganoderma orbiforme</i>	URM83332	JX310813	BRA
<i>Ganoderma orbiforme</i>	URM83334	JX310814	BRA
<i>Ganoderma orbiforme</i>	URM83335	JX310815	BRA
<i>Ganoderma orbiforme</i>	URM83336	JX310816	BRA
<i>Ganoderma parvulum</i>	URM2948	JX310821	BRA
<i>Ganoderma parvulum</i>	URM80765	JX310822	BRA
<i>Ganoderma stipitatum</i>	THC 16	KC884264	COL

**Anexo 5. Especie, código e identificación de secuencias publicadas en GenBank que fueron incluidas en el análisis filogenético. Continuación**

<b>Especie</b>	<b>Nombre</b>	<b>Número Genbank</b>	<b>País <sup>a</sup></b>
<i>Ganoderma subforficatum</i>	BRFM 1024	JX082352	GUF
<i>Ganoderma weberianum</i>	B-18	JN637827	CUB
<i>Tomophagus colossus</i>	URM80450	JX310825	BRA
<i>Tomophagus colossus</i>	Z37071	Z37071	TAI

<sup>a</sup> GBR: Gran Bretaña, GER: Alemania, HUN: Hungría, USA: Estados Unidos, ZAF: Sudáfrica, CHN: China, CRI: Costa Rica, GUF: Guyana Francesa, ECU: Ecuador, KOR: Corea, PRI: Puerto Rico, BRA: Brasil, TAI: Tailandia, JPN: Japón, COL: Colombia, CAN: Canadá, CUB: Cuba.



## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Washington Andrés Salazar Loaiza, C.I. 1716638380 autor del trabajo de graduación titulado: “Diversidad de los géneros *Ganoderma* y *Amauroderma* en el Ecuador”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en la facultad de **Ciencias Exactas y Naturales**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 31 de octubre de 2014

Washington Andrés Salazar Loaiza

C.I.: 1716638380